

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS

UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTÉ DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2023-2024

N°99

THÈSE D'EXERCICE

Pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Julia LENAIN née le 20/05/1997 à CHARTRES

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 17 NOVEMBRE 2023

**« LES TISANES D'ARMOISE ANNUELLE
CONSTITUENT-ELLES LE PRODUIT MIRACLE POUR
SOIGNER LE PALUDISME ? »**

JURY

Président :

• **Pr DIMIER-POISSON Isabelle** – Professeur des Universités, Faculté de pharmacie de Tours

Directeur :

• **Pr DESOUBEUX Guillaume** – Professeur des Universités, Praticien hospitalier, Service parasitologie au CHU de Tours

Co-Directrice :

• **Dr GLEVAREC Gaëlle** – Pharmacien, Maître de Conférences, Faculté de pharmacie de Tours

Membre :

• **Dr JUSSEAUME Delphine** – Pharmacien Titulaire d'Officine à Tours

ANNEE : 2023 – 2024

Directeur : Pr Denys BRAND

Directeur Adjoint : M. Matthieu JUSTE

Assesseurs : M. Gildas PRIE, Mme Mélanie BOUVIN PLEY, Mme Émilie ALLARD-VANNIER, M. Bruno GIRAUDEAU, Mme Claire POUPLARD

ENSEIGNANTS

14 PROFESSEURS D'UNIVERSITE

ALLARD-VANNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
ALLOUCHI	Hassan	PHYSIQUE CHIMIE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHÉO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Véronique	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITE ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE ET MATHEMATIQUES
GIRAUDEAU	Bruno	SANTE PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUE & EPIDEMIOLOGIE
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE

2 PROFESSEURS EMERITES

BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
THIBAULT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

36 MAITRES DE CONFERENCES

AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUVIN-PLEY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
DELAYE	Pierre-olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
JUSTE	Matthieu	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
LAJOIE	Laurie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
LOUDIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
POUPET	Cyril	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIÉ	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SAHLI	Ramla	PHARMACOGNOSIE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE ET BIOINFORMATIQUE
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOUILLIE	Johnny	CHIMIE MINERALE
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Émilie	SANTE PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUE, EPIDEMIOLOGIE
ZHANG	Bei Li	PHARMACOLOGIE

3 MAITRES DE CONFERENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

3 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

POUPIN	Pierre	BIOSTATISTIQUES ET SANTE PUBLIQUE
RAMDANI	Yanis	IMMUNOLOGIE
TULOUP	Vianney	PHARMACIE CLINIQUE

3 ATER (Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche)

AMRANE	Dyhia	CHIMIE ORGANIQUE
MEHENNI	Lyes	CHIMIE ANALYTIQUE
VERGER	Alexis	PHARMACIE CLINIQUE

I PRAG

VEWALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-------------------	-------	---------

I contrat d'enseignement

GERBIER	Soledad	ANGLAIS
---------	---------	---------

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

EPARDAUD	Mathieu	INRAE
MEVELEC	Marie-Noëlle	INRAE
MOIRE	Nathalie	INRAE

Serment de Galien



SERMENT DE GALIEN

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

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

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

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

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

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

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

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 17 / 11 / 2023

L'étudiant LENAIN Julia

Le Doyen de la Faculté
Professeur Denys BRAND

Remerciements

A Madame le Professeur **Isabelle DIMIER-POISSON** de m'avoir fait l'honneur de présider ma thèse, veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur **Guillaume DESOUBEAUX** pour son encadrement, sa disponibilité et son implication lors de la rédaction de cette thèse. Je vous remercie d'avoir pris du temps pour m'accompagner, me conseiller, me suggérer, me corriger (et cela de nombreuses fois) et me relire durant toute la réalisation de ce travail. Un grand merci aussi pour votre encadrement et vos enseignements lors de mon stage hospitalier au sein de votre service de parasitologie, veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère gratitude.

Aux membres du jury,

Madame le Docteur **Gaëlle GLEVAREC** pour avoir accepté de faire partie de ce jury, je vous remercie pour vos conseils et vos corrections durant la rédaction de ce travail, veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

Madame le Docteur **Delphine JUSSEAUME**, pour avoir accepté de faire partie de ce jury, veuillez trouver l'expression de ma sincère reconnaissance. Je vous remercie infiniment de m'avoir appris tant de choses durant mon stage de sixième année. J'ai été ravie d'avoir pu travailler auprès de vous et de Laëtitia dans votre pharmacie, si formidable.

A ma famille,

Papa, maman, merci pour votre amour qui a contribué à ma réussite et pour votre soutien indéfectible tout au long de ces études. Je vous aime.

Vik, mon petit frère, bientôt grand, merci de faire partie de ma vie. Je t'aime.

Marie-Lucile, ma tata mais aussi ma marraine, merci pour ton double soutien au quotidien que ce soit dans ma vie professionnelle mais aussi dans ma vie personnelle. Je t'aime.

Xavier, merci d'être le meilleur des parrains et de ton soutien au quotidien. Je t'aime.

Paul, merci pour ta patience et ton soutien permanent, pour tous ces moments que l'on a partagés et tous ceux à venir. Je t'aime.

A mes amis,

Tit, Juju, Clo, Chlaude, Tricard, Kenz, Simsim et tant d'autres, merci pour ces innombrables soirées étudiantes passées à vos côtés. Sans vous elles n'auraient pas eu la même saveur.

SOMMAIRE

Table des matières

Serment de Galien	5
Remerciements	6
Liste des abréviations.....	9
Liste des figures	10
Liste des tableaux	12
Liste des annexes	14
I. Introduction	15
II. Partie 1 : Le paludisme en quelques mots	16
A. Généralités	16
1. Données épidémiologiques.....	16
2. Le cycle infectieux.....	17
3. Les symptômes	19
B. Traitements actuels	20
C. Mortalité.....	22
III. Partie 2 : L'armoise annuelle, une plante chinoise	23
A. Présentation botanique	23
B. Découverte de l'artémisinine	24
1. Études pharmacologiques de l'artémisinine.....	25
2. Mécanisme d'action de l'artémisinine	26
3. Pharmacocinétique de l'artémisinine	26
4. Études cliniques de l'artémisinine	27
C. Les dérivés de l'artémisinine	28
1. Dihydroartémisinine (DHA ou artéminol)	28
2. Artésunate	29
3. Artéméther	30
D. Mode de production d' <i>Artemisia annua</i>	31
1. Conditions de cultures	31
a) Périodes de récoltes.....	31
b) Climat propice	32
c) La luminosité	32
d) L'eau	33
e) Le sol	33
2. Modalités pratiques	33
a) Ensemencement.....	33
b) Repiquage	34
c) Récolte	34
d) Séchage	36
3. Alternatives.....	38
E. Concentration efficace.....	38
IV. Partie 3 : Essais cliniques et applications réelles chez l'Homme	40
A. La promotion des tisanes d'armoise annuelle dans le monde scientifique.....	40
1. Étude de Mueller <i>et al.</i> (2000)	40
a) Présentation des études	40
b) Biais et limites	43

c)	Synthèse et analyse critique	43
2.	Étude de Gebeyaw <i>et al.</i> (2010).....	44
a)	Présentation de l'étude.....	44
b)	Biais et limites	45
c)	Synthèse et analyse critique	46
3.	Étude de Ogwang <i>et al.</i> (2012).....	47
a)	Présentation de l'étude.....	47
b)	Biais et limites	49
c)	Synthèse et analyse critique	50
4.	Étude de Chougouo Kengne <i>et al.</i> (2012)	51
a)	Présentation de l'étude.....	51
b)	Biais et limites	52
c)	Synthèse et analyse critique	55
5.	Étude de Zime-Diawara <i>et al.</i> (2015)	55
a)	Présentation de l'étude.....	55
b)	Biais et limites	58
c)	Synthèse et analyse critique	59
6.	Étude de Munyagi <i>et al.</i> (2019).....	60
a)	Présentation de l'étude.....	60
b)	Biais et limites	62
c)	Synthèse et analyse critique	64
B.	Réfutation des tisanes d'armoise annuelle dans le monde scientifique	65
1.	Étude de Mueller <i>et al.</i> (2004)	65
a)	Présentation de l'étude.....	65
b)	Biais et limites	67
c)	Synthèse et analyse critique	68
2.	Étude de Blanke <i>et al.</i> (2008)	68
a)	Présentation de l'étude.....	68
b)	Biais et limites	71
c)	Synthèse et analyse critique	73
3.	Étude de Magalhães <i>et al.</i> (2016)	73
a)	Présentation de l'étude.....	73
b)	Biais et limites	75
c)	Synthèse et analyse critique	76
4.	Étude d'Argemi <i>et al.</i> (2019)	76
a)	Présentation de l'étude.....	76
b)	Synthèse et analyse critique	77
C.	Résumé des articles évaluants l'efficacité des tisanes <i>Artemisia annua</i>	78
V.	Discussion générale	79
	Annexes	82
	Bibliographie	86
	Signatures du directeur de thèse et du doyen.....	Erreur ! Signet non défini.
	Engagement de non-plagiat.....	Erreur ! Signet non défini.
	Résumé.....	Erreur ! Signet non défini.

Liste des abréviations

ASAQ :	Artésunate-Amodiaquine
ANSM :	Agence Nationale de la Sécurité du Médicament et des produits de santé
CTA :	Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine
CLHP :	Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance
DHA :	Dihydroartémisinine
DXP :	1-désoxy-d-xylulose-5-phosphate
ECG :	Électrocardiogramme
ETP :	Échec Thérapeutique Précoce
ETT :	Échec Thérapeutique Tardif
MVA :	Acide mévalonique
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
ONG :	Organisation Non Gouvernementale
ST :	Succès Thérapeutique

Liste des figures

Figure 1 : Répartition des cas de paludisme dans le monde.

Figure 2 : Cartographie des différents genres de *Plasmodium* à travers le monde.

Figure 3 : Cycle parasitaire de *Plasmodium falciparum*.

Figure 4 : Anophèle femelle, pendant un repas sanguin.

Figure 5 : L'armoise annuelle.

Figure 6 : Structure chimique de l'artémisinine.

Figure 7 : Obtention de la dihydroartémisinine à partir de l'artémisinine.

Figure 8 : Les principaux dérivés de l'artémisinine.

Figure 9 : Cartographie de la présence certaines de l'*Artemisia annua* dans le monde.

Figure 10 : Graphique représentant la saisonnalité de l'*Artemisia annua*.

Figure 11 : Repiquage des plants en pépinière en fonction de la densité des semis en pleine terre.

Figure 12a : Boutons floraux d'*Artemisia annua*.

Figure 12b : Plant d'*Artemisia annua* en cours de floraison.

Figure 13 : Concentration de l'artémisinine en fonction des différents modes de séchages des plants d'*Artemisia annua*.

Figure 14 : Dénombrement des parasites dans les frottis sanguins épais de cinq patients atteints de paludisme sous traitement avec du thé *A. annua*.

Figure 15 : Tableau de recrutement, d'inscription et de suivi des participants de l'étude.

Figure 16 : Incidence mensuelle du paludisme dans les groupes *Artemisia* (ligne pointillée) et placebo (ligne continue).

Figure 17 : Évolution de la température moyenne entre les quatre bras d'étude.

Figure 18 : Évolution de la parasitémie moyenne entre les quatre bras d'étude.

Figure 19 : Évolution de la température corporelle des malades traités par la tisane d'*Artemisia annua*.

Figure 20 : Évolution de la parasitémie des malades traités par la tisane d'*Artemisia annua*.

Figure 21 : Évolution de la fréquence des symptômes chez les malades au cours du traitement par la tisane d'*Artemisia annua*.

Figure 22 : Fréquence des symptômes observés chez les malades traités par la tisane d'*Artemisia annua*.

Figure 23 : Diagramme en flux de l'essai.

Figure 24 : Courbe de la température des patients des trois groupes en fonction du temps.

Figure 25 : Progression moyenne de la fièvre des différents groupes en fonction du temps.

Figure 26 : Randomisation des patients dans les trois bras d'étude.

Figure 27 : Randomisation des patients dans les trois bras d'étude.

Figure 28 : Introduction des antipaludiques et apparition des résistances (encadrés rouges) de *Plasmodium falciparum*.

Liste des tableaux

Tableau I : Fréquence des signes de gravité du paludisme à *P. falciparum* chez les enfants et les adultes.

Tableau II : Les différentes classes de schizonticides érythrocytaires actuelles.

Tableau III : Les différentes associations d'antipaludiques existantes.

Tableau IV : Principales caractéristiques de la dihydroartémisinine (= arténimol)

Tableau V : Principales caractéristiques de l'artésunate.

Tableau VI : Principales caractéristiques de l'artéméther.

Tableau VII : Comparaison des constituants chimiques entre les jeunes plants et les plants adultes de l'*Artemisia annua*.

Tableau VIII : Comparaison de la teneur en artémisinine dans les différentes parties médicinales de l'*Artemisia annua* par rapport à la période de récolte et de conservation.

Tableau IX : Teneur en artémisinine dans les infusions (méthode A) ou les décoctions (méthode B) à base de feuilles *Artemisia annua*.

Tableau X : Données cliniques de 48 patients atteints de paludisme avant et après traitement avec le thé *Artemisia annua* dans l'étude de Nebobongo.

Tableau XI : Résumé des caractéristiques de ces deux études.

Tableau XII : Résumé des résultats obtenus dans l'étude de Lwiro et Nebobongo.

Tableau XIII : Résumé des différences entre les deux bras d'études.

Tableau XIV : Résultats obtenus par les auteurs en fin d'étude.

Tableau XV : Répartition du paludisme clinique entre les groupes « tisane » et « placebo » sur une période de 9 mois.

Tableau XVI : Résumé des différences entre les différents bras d'études.

Tableau XVII : Résultats obtenus par les auteurs dans les quatre groupes en fin d'étude.

Tableau XVIII : Âge et poids moyens des patients ainsi que la moyenne des deux critères majoritaires d'inclusion de cette étude à J₀.

Tableau XIX : Résumé du suivi des patients au cours de l'essai clinique portant sur l'efficacité et la tolérance de la tisane et des gélules de *Artemisia annua* cultivé au Bénin chez les patients atteints de paludisme simple.

Tableau XX : Résumé des différences entre les deux bras d'études.

Tableau XXI : Résultats obtenus dans les deux groupes en fin d'étude.

Tableau XXII : Niveau de diminution du portage des gamétocytes déterminé au microscope J₁₄ - J₂₆ au sein des différentes tranches d'âges.

Tableau XXIII : Âge moyen et médian des patients et niveaux parasitaires sur les cinq sites d'études à J₀ et J₂₈.

Tableau XXIV : Résumé des différences entre les trois bras d'études.

Tableau XXV : Efficacité du traitement de sept jours avec des préparations d'*Artemisia annua* dans le paludisme non compliqué à *Plasmodium falciparum* comparé à la quinine.

Tableau XXVI : Résumé des caractéristiques de base des patients.

Tableau XXVII : Résumé des différences entre les trois bras d'études.

Tableau XXVIII : Résumé des caractéristiques des deux bras d'études.

Tableau XXIX : Évolution de la parasitémie des patients infectés par *Plasmodium falciparum* traités par Coartem®.

Tableau XXX : Évolution de la parasitémie des patients infectés par *Plasmodium falciparum* traités par les tisanes *Artemisia annua*.

Tableau XXXI : Déclaration de cas de paludisme après l'utilisation d'une prophylaxie à base de formes non pharmaceutiques de *Artemisia*.

Liste des annexes

Annexe 1 : Les critères d'inclusion établis par l'OMS.

Annexe 2 : Les critères d'exclusion établis par l'OMS.

Annexe 3 : Détermination des résultats de l'étude établis par l'OMS.

Annexe 4 : Décision du 22 avril 2015 portant suspension de la mise sur le marché à titre gratuit ou onéreux de la distribution, de la fabrication, de la détention en vue de la vente ou de la distribution à titre gratuit, de l'importation, de l'exportation, de la publicité du produit dénommé Artemisia de la société EXSENCE-OGNOPS.

I. Introduction

Le paludisme est une maladie infectieuse, causée par les protozoaires *Plasmodium spp.*, transmis à l'Homme par l'anophèle femelle infectée. En termes d'incidence, le paludisme constitue la première parasitose épidémique mondiale, particulièrement présente dans les régions tropicales et subtropicales, qui d'après le rapport de l'OMS, a causé près de 619 000 décès en 2021. Malgré des efforts considérables pour lutter contre le paludisme, la morbidité et la mortalité n'ont pas drastiquement changé au cours de ces 50 dernières années avec plus de 200 millions de cas de paludisme recensés chaque année (1).

L'enjeu immédiat est d'élargir l'accès à des traitements efficaces et d'améliorer les moyens de prévention existants pour les populations vivant dans les zones où le paludisme est endémique, notamment pour les jeunes enfants qui représentent 67% des décès de paludisme dans le monde en 2019. En effet, la prévention est l'une des pierres angulaires de la lutte contre le paludisme. Elle repose en premier lieu sur des mesures environnementales : assainissement des zones humides, épandages d'insecticides, protection des habitations par des moustiquaires, et notamment des lits avec des moustiquaires imprégnées d'insecticide (2). En complément de ces mesures, la prophylaxie médicamenteuse est en second lieu un volet important pour prévenir des infections à *Plasmodium spp.*, notamment pour les voyageurs allant dans ces zones endémiques. Cette prophylaxie est ainsi censée réduire le risque d'infection, mais ne garantit pas une protection absolue. En effet, en cas de symptômes évocateurs, les traitements antipaludiques nécessaires doivent immédiatement être démarrés. Actuellement, les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine sont les premiers médicaments recommandés dans le traitement du paludisme. Cependant, dans les zones géographiques éloignées du monde où les circonstances politiques et économiques sont incertaines, l'accès à ces thérapies conventionnelles reste difficile. Les populations qui vivent dans ces zones endémiques s'orientent alors vers des médecines traditionnelles pouvant être produites par des moyens simples à partir de plantes à propriétés médicinales cultivées localement.

L'armoise annuelle se retrouve ainsi couramment utilisée dans le traitement contre le paludisme, notamment sous forme de tisanes, procédé décrit depuis des millénaires dans les anciennes pharmacopées grecques et chinoises. Isolée en 1972, l'artémisinine constitue le principe actif retrouvé dans les feuilles de cette plante. Elle a révélé une propriété antipaludique très prometteuse. Depuis 2010, de nombreuses campagnes médiatiques et des articles scientifiques ont remis au goût du jour l'utilisation de ces tisanes qui sont présentées comme le « remède miracle » au paludisme (3). Face à cet engouement, les autorités de santé internationales ont été contraintes de se positionner de telle sorte qu'elles ne préconisent actuellement pas l'utilisation de ces tisanes dans le traitement du paludisme, du fait de l'absence de données d'efficacité solides.

Ce travail a pour objectif de mesurer à travers l'analyse détaillée d'articles scientifiques, l'efficacité thérapeutique des traitements, curatifs et préventifs, basés sur l'utilisation de tisanes d'armoise annuelle contre le paludisme. Dans une première partie, les généralités concernant le paludisme seront présentées. De sa composition à sa production, l'armoise annuelle sera décrite dans un second temps. Puis, la troisième partie sera consacrée à la présentation et l'analyse d'articles scientifiques évaluant l'efficacité de ces formes non pharmaceutiques d'armoise annuelle ainsi que les limites et les biais retrouvés dans chacun de ces articles. Pour finir, la discussion générale regroupera les principaux arguments pour lesquels l'utilisation de ces tisanes n'est pas recommandée ainsi que la place des autorités de santé, françaises et internationales, face à l'engouement de son emploi.

II. Partie 1 : Le paludisme en quelques mots

A. Généralités

Le paludisme est une maladie causée par le parasite du genre *Plasmodium*, transmis essentiellement à l'Homme par les piqûres de l'anophèle femelle infectée.

La maladie se transmet ainsi de manière verticale, les piqûres de moustiques, mais aussi de manière horizontale. En effet, il peut aussi être transmis entre la mère et l'enfant à la fin de la grossesse ou, de façon exceptionnelle, au cours d'une transfusion sanguine.

1. Données épidémiologiques

De nos jours, le nombre de personnes atteintes du paludisme chaque année s'est stabilisé dans le monde depuis la forte diminution qui a été observée dans les années 2000.

En effet, cette diminution a pu être permise grâce à deux phénomènes : la distribution massive de moustiquaires et l'amélioration de l'accès aux soins, qui ont été entrepris par l'organisation mondiale de santé ainsi que par de nombreuses autres associations.

Les principales zones impaludées dans le monde sont (Figure 1) :

- L'Afrique subsaharienne
- L'Asie
- L'Amérique latine
- Le Moyen-Orient

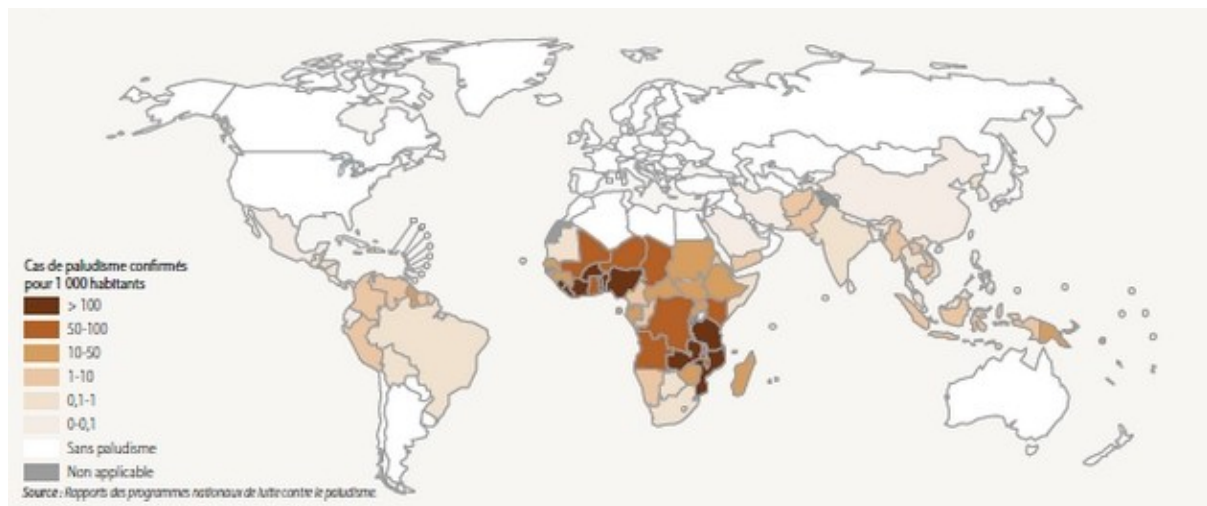


Figure 1 : Répartition des cas de paludisme dans le monde (2013) (4).

Au total, 106 pays sont considérés comme endémiques pour le paludisme dont 43 en Afrique tropicale. Ces zones géographiques sont impaludées car ce sont des zones humides possédant des conditions climatiques favorables à la multiplication du moustique vecteur et du parasite.

Les autres régions géographiques sont très peu touchées par le paludisme car elles possèdent des conditions défavorables à la transmission du parasite telles que les saisons froides, l'altitude élevée (même en zones tropicales ou sous-tropicales) ou encore des zones géographiques sans espèces locales d'anophèles capables de transmettre le paludisme.

En 2015, selon l'OMS (5), 3,2 milliards de personnes vivaient en zone d'endémie palustre et le nombre de cas estimés était de 214 millions d'épisodes cliniques et près de 600 000 décès dont 90% en Afrique subsaharienne. Le nombre de décès chez les enfants de moins de 5 ans a été estimé à 306 000. La quasi-totalité des décès sont liés à l'infection à *Plasmodium falciparum* (99%) qui est le genre le plus répandu dans le monde.

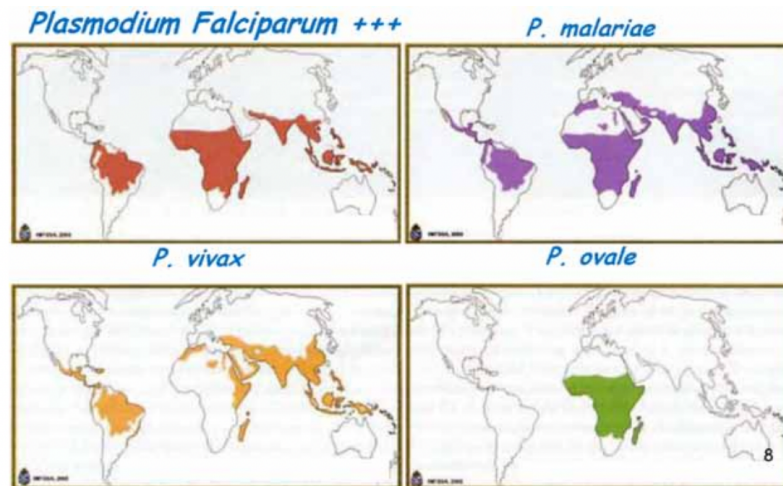


Figure 2 : Cartographie des différents genres de *Plasmodium* à travers le monde (6).

Sur cette cartographie (Figure 2) on remarque que la répartition de ces différentes espèces de *Plasmodium* varie dans le globe :

- *P. falciparum* étant l'espèce la plus présente dans le monde et celle qui est responsable de la majorité des décès dus au paludisme dans le monde. Il est le plus répandu sur le continent africain tout comme *P. malariae*. Son impact est cependant variable selon la région considérée : en 2018, il a été à l'origine de 99,7% des cas estimés de paludisme en Afrique mais ne représenterait que la moitié des cas en Asie du Sud-Est (2).
- *P. ovale* est quant à lui localisé seulement sur le continent africain.

D'autres régions du globe sont touchées de façon plus anecdotique par le paludisme. En effet, du fait de la mondialisation, les voyageurs internationaux qui visitent les régions endémiques sont soumis au risque d'infection par *Plasmodium spp.* Cette exposition serait à l'origine de 10 000 déclarations d'accès palustres en zone non endémique, encore appelés « cas de paludisme d'importation ». (7)

2. Le cycle infectieux

L'agent responsable du paludisme est un protozoaire intracellulaire du genre *Plasmodium*. Il existe plusieurs genres de *Plasmodium* capables d'infecter l'humain : les deux plus répandus sont *Plasmodium falciparum* qui est de loin le plus mortel et *Plasmodium malariae*. De façon moins fréquente, on retrouve aussi *P. vivax*, *P. ovale* et *P. knowlesi*. Ces différents genres se différencient par la zone géographique où ils sévissent et par le profil de symptômes qu'ils génèrent.

Le cycle parasitaire de *Plasmodium spp.* (Figure 3) possède un cycle parasitaire hétéroxène faisant intervenir deux hôtes :

- L'hôte définitif, où s'effectue la reproduction sexuée, est le moustique femelle hématophage du genre *Anopheles spp.*
- L'hôte intermédiaire, où s'effectue la reproduction asexuée, est représenté par l'Homme.

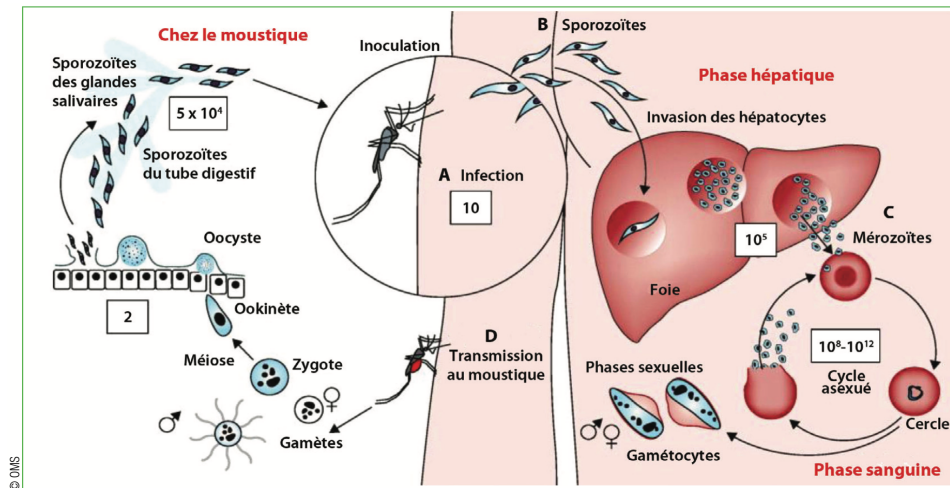


Figure 3 : Le cycle parasitaire de *Plasmodium falciparum* (7).

Lors d'un repas sanguin, l'anophèle femelle à partir de ses glandes salivaires va venir piquer l'Homme et va lui injecter *Plasmodium* sous une forme parasitaire appelé sporozoïte. Ces millions de sporozoïtes mobiles et infectants inoculés au niveau du site de la piqûre restent quelques minutes dans le derme et regagne ensuite la circulation lymphatico-sanguine.

- Phase hépatique (schizogonies hépatiques) : Le parasite arrive au niveau du foie pour rejoindre et il s'y multiplie de façon asexuée (multiplication du noyau puis individualisation du cytoplasme autour de chacun des noyaux). Toute cette phase, qui dure deux semaines, est asymptomatique et l'on obtient une forme parasitaire appelée schizonte, qui après maturation prend le nom de mérozoïte.
- Phase sanguine (schizogonies érythrocytaires) : Après maturation, le mérozoïte, cherche à pénétrer dans le globule rouge pour profiter des nutriments, notamment l'hémoglobine qui après son utilisation devient l'hémozoïne. Ce pigment palustre est une substance pyrogène, provoquant des accès de fièvre caractéristique de cette maladie.
- Phase sexuelle (sporogonie) : Sous l'effet d'un stress ou d'autres stimuli, une partie des formes mérozoïtes asexuées peut se différencier en gamétocytes mâles ou femelles. Ce sont les formes sexuées non répliquatives du parasite, éliminées passivement au cours de l'infection au niveau de la rate où elles sont filtrées si elles ne sont pas prélevées par l'anophèle femelle.

Cependant, lors d'un repas sanguin (Figure 4), ces formes circulantes vont être ingérées et vont initier une reproduction sexuée dans la cavité abdominale de l'anophèle femelle, où il y aura fécondation puis naissance d'un œuf mobile (l'ookinète). Cet œuf va sortir de l'intérieur de l'estomac pour aller se fixer et s'enkyster sur la paroi externe de l'estomac. On aura donc un œuf immobile appelé oocyste dans lequel une centaine de sporozoïtes seront produits.

Ceux-ci migreront à maturation jusqu'aux glandes salivaires de l'anophèle pour être libérés lors d'un prochain repas sanguin.



Figure 4 : Anophèle femelle, Anopheles gambiae pendant un repas sanguin (8).

Parmi les 3 500 espèces de moustiques existantes, on compte environ 450 espèces du genre *Anopheles*. L'anophèle est un genre de moustique de l'ordre des diptères, de la famille des Culicidae qui est très redouté car il est le vecteur de transmission du paludisme dont seulement 68 espèces en sont capables. Ce sont uniquement les femelles qui vont être vecteurs de cette maladie, puisqu'elles deviennent hématophages, ce qui améliore sa ration protéique, pour nourrir ses œufs.

Ainsi, comme tous les moustiques, le genre *Anopheles* passe par quatre stades : le stade zygotique, le stade larvaire, le stade pupaire et pour finir le stade imaginal (adulte), qui vont durer entre sept jours et cinq semaines selon l'espèce. En effet, les trois premiers stades se déroulent en milieu aquatique et à température ambiante. Le stade adulte quant à lui se déroule en milieu aérien et dure entre une semaine pour le mâle et jusqu'à deux mois pour la femelle.

Les zones impaludées sont des zones humides (supérieures à 60%), où les précipitations sont supérieures à 80 mm et la température moyenne comprise entre 18°C et 32°C. Étant peu résistants à la sécheresse, l'humidité et les précipitations sont ainsi nécessaires au développement des œufs et des larves de l'anophèle, qui éclosent en deux à trois jours en climat tropical et en deux à trois semaines en climat tempéré (9).

3. Les symptômes

Le paludisme est une maladie fébrile et hémolysante. Après piqure de l'anophèle infectée, la phase d'incubation est asymptomatique. Les premiers symptômes, tels que la fièvre, les maux de tête et les frissons, apparaissent au début de la phase de lyses érythrocytaires qui peut intervenir dans un intervalle allant de 10 jours à plusieurs mois. Ces symptômes sont difficiles à reconnaître en premier lieu car peu spécifiques.

Cet accès palustre non grave chez un patient est caractérisé initialement par une fièvre fluctuante évoluant par pics. Après quelques jours d'évolution, l'apparition de sueurs et frissons s'ajoutent à la fièvre de façon successive. Ainsi, l'accès palustre se compose de 3 phases :

- Stade frissons : violents frissons, 39°C
- Stade de chaleur : peau sèche et brûlante, 40-41°C
- Stade de sueurs : sueurs abondantes, la température s'effondre.

Le rythme des fièvres est le suivant :

- Toutes les 48 heures pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* (fièvre tierce) ;
- Toutes les 72 heures pour *P. malariae* (fièvre quarte).

De façon variable s'ajoutent d'autres symptômes à ceux-là tels que des céphalées, des courbatures, des douleurs abdominales, des vomissements et des diarrhées (5).

En l'absence de traitement, après l'apparition des premiers symptômes, le paludisme à *Plasmodium falciparum*, *vivax* et *ovale* évolue vers une affection grave dans les 24 à 48 heures (Tableau I). Seule l'infection à *P. falciparum* peut évoluer vers une affection mortelle.

Ce paludisme grave est le plus à risque d'être développé chez les sujets non immuns, c'est-à-dire les personnes aux âges extrêmes de vie (nourrissons, enfants, personnes âgées), femmes enceintes, sujets aspléniques, immunodéprimés et les sujets socio économiquement défavorisés.

Tableau I : Fréquence des signes de gravité du paludisme à P. falciparum chez les enfants et les adultes (5).

Fréquence		Manifestations cliniques ou paracliniques
Enfants	Adultes	
+++	+++	Prostration ⁽¹⁾
+++	++	Troubles de la conscience ⁽¹⁾
+++	+	Détresse respiratoire ⁽¹⁾
+++	+	Convulsions multiples
+	+	Collapsus circulatoire
±	+	Œdème pulmonaire (radiologique)
+	+++	Oligo-anurie
±	+	Hémorragies
+	+++	Ictère
±	+	Hémoglobinurie
+++	+	Anémie sévère
++	+	Hypoglycémie

Ainsi, le paludisme présente une symptomatologie aspécifique, ce qui explique sa dangerosité. Il faut donc évoquer l'hypothèse d'un paludisme devant toute fièvre inexpliquée chez un patient exposé dans les quelques mois précédant cette fièvre. Seul un diagnostic rapide permet d'éviter les complications et, une fois le diagnostic posé, les signes de gravité conditionneront la thérapeutique à mettre en place.

B. Traitements actuels

L'essentiel des molécules antipaludiques sont des molécules qui vont venir agir sur la forme sanguine du parasite, c'est-à-dire la forme schizonte, d'où leur nom schizonticide érythrocytaire. Ces molécules permettent aux voyageurs de se protéger du paludisme au moyen d'une chimio prophylaxie qui supprime le stade sanguin de l'infection palustre. Si la maladie se déclare elle peut aussi être traitée par ces médicaments antipaludiques. En effet, ces antipaludiques suppriment (traitement curatif) ou préviennent (prophylaxie successive) l'apparition des symptômes cliniques.

Le traitement doit prendre en compte les caractéristiques du patient (âge, zone de provenance géographique, prophylaxie antérieure), et l'espèce plasmodiale en cause (*P. falciparum* notamment). Une fois ce diagnostic posé, avant de choisir la stratégie thérapeutique à mettre en œuvre, il convient de déterminer si le patient est atteint d'une forme compliquée (neuropaludisme, hémorragie) ou non du paludisme (sans critère de gravité).

Les antipaludiques utilisés sont classés en fonction des stades parasitaires sur lesquels ils agissent.

On retrouve :

- Les gamétocytocides inhibent la transformation des gamétocytes et bloquent la transmission de l'espèce plasmodiale. Ils sont partiellement actifs contre la forme hépatique du parasite (schizonticide intra-hépatique). Ils sont représentés par la seule molécule existante la Primaquine dont la toxicité limite l'utilisation.
- Les schizontocides sont actifs sur les formes endo-érythrocytaires de *Plasmodium spp.* Ils sont soit d'action rapide (amino-4-quinoléines, aminoalcool, sesquiterpène), soit d'action plus lente (antimétabolites et antibiotiques).

On retrouve quatre classes de schizontocides érythrocytaires (Tableau II) :

Tableau II : Les différentes classes de schizontocides érythrocytaires actuelles.

Classe	DCI (Spécialité®)
Amino-alcool	Quinine (Quinimax®), Méfloquine (Lariam®), Luméfantrine
Amino-4-quinoléines	Amodiaquine (Flavoquine®), Pipéraquine
Sesquiterpènes	<u>Artémisine</u> , Artéméthér (Paluther®), Artésunate (Malacef®)
Antimétabolites	<u>Antifolinique</u> : Proguanil (Paludrine®), Pyriméthamine (Malocide®) <u>Antibiotique</u> : Doxycycline (Doxypalu®), Clindamycine (Dalacine®) <u>Analogue de l'ubiquinone</u> : Atovaquone (Wellvone®)

Cependant, afin d'obtenir une synergie d'action et de limiter le développement de la chimiorésistance des souches plasmodiales, notamment *P. falciparum*, les antimétabolites sont utilisés sous forme d'associations (Tableau III), c'est ce qu'on appelle des thérapies combinées.

Tableau III : Les différentes associations d'antipaludiques existantes.

Les associations anciennes	Fansimef® (Méfloquine + Sulfadoxine + Pyriméthamine) Savarine® (Chloroquine + Proguanil)
Les associations récentes libres	Artequin® (Artésunate + Méfloquine) Arsucam® (Artésunate + Amodiaquine) Arsudar® (Artésunate + Sulfadoxine + Pyriméthamine)

Les associations récentes fixes	Coartem® , Riamet® (Artémether + Luméfantrine) Malarone® (Atovaquone + Proguanil) Asaq® (Artésunate + Amodiaquine) Asmq® (Artésunate + Méfloquine)
---------------------------------	--

La chloroquine est la première molécule pour laquelle *P. falciparum* a été résistante (dans les années 50), suivie de la méfloquine (dans les années 90) et de l'artémisinine (en 2009) (10).

Cette résistance à l'artémisinine est associée notamment à :

- Un ralentissement de l'élimination des parasites chez les patients,
- Une augmentation de la survie des parasites à un stade précoce
- Des polymorphismes mononucléotidiques dans le gène « K13 » du parasite
- Un développement ralenti du parasite. (11)

Il est donc nécessaire de limiter cette propagation grâce à une meilleure compréhension des mécanismes de résistances liées à l'artémisinine qui est la molécule pour laquelle il en existe encore le moins.

C. Mortalité

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde. En 2020, d'après les données de l'OMS (12), près de la moitié de la population mondiale était exposée au risque de paludisme. Ils ont estimé à 241 millions le nombre de cas de paludisme dans le monde et le nombre de décès imputables au paludisme s'élève à 627 000 en 2020.

Au sein de la population, certains groupes sont bien plus exposés au risque de contracter la maladie et de développer une affection sévère : les nourrissons, les enfants de moins de cinq ans, les femmes enceintes ainsi que les personnes ayant une faible immunité, qu'elle soit acquise (VIH/sida) ou innée.

Le retard au diagnostic constitue un des facteurs de risque de survenue des accès palustres graves et donc des décès. En effet, la gravité de cette maladie découle d'un ensemble de mécanismes physiopathologiques complexes et encore mal décrits. La mise en œuvre de techniques rapides, sensibles et spécifiques est nécessaire mais non suffisante dans les pays où l'accès aux soins est restreint, ainsi que dans ceux où le diagnostic et la prise en charge restent encore méconnus (7). La réduction de la mortalité pourra être permise par l'élargissement de l'accès aux outils et aux stratégies de prévention du paludisme comme la lutte anti-vectorielle efficace et l'utilisation de médicaments antipaludiques préventifs dans les pays impaludés.

Malgré les moyens humains et financiers qui ont été mis en place depuis plusieurs années, le paludisme reste encore la première parasitose mondiale. La compréhension des mécanismes de transmission et de développement de la maladie a permis de mieux prévenir et traiter l'infection palustre, en limitant la mortalité qui lui est associée.

Les efforts de la communauté internationale ont cependant permis une diminution de 60% de la mortalité en 15 ans et cela grâce à la découverte de l'artémisinine par le professeur Tu Youyou, prix Nobel de 2015, qui a joué un rôle capital dans cette réduction du nombre de décès (10).

III. Partie 2 : L'armoise annuelle, une plante chinoise

En Chine, dès le II^e siècle av. J-C, l'armoise annuelle est décrite pour la première fois dans le traité médical, *Prescriptions for Fifty-two diseases* (Wu Shi Er Bing Fang) déterrée des tombes de la dynastie des Han Mawangdui, comme médicament anti-fièvre.

L'armoise annuelle est également connue sous le nom d'armoise douce, annie douce, armoise ou absinthe annuelle (Figure 5).

A. Présentation botanique

Artemisia annua L., de son nom latin, est une espèce de plante dicotylédone de la famille des Asteraceae. C'est une herbacée annuelle, à feuillage glabre (dépourvu de poils) et finement découpé, très ramifiée et son inflorescence (regroupement de fleurs) est très volubile et pyramidale. Sa tige unique dressée, brun violacé à brunâtre, côtelée, veinée de rouge, est couverte de petits poils très épars. Elle possède plusieurs capitules avec deux ou trois bractées glabres, formant un involucre. Ses feuilles mesurent 3-5 cm de long, 2-4 cm de large, sont alvéolées, ovales et glanduleuses. Les feuilles inférieures sont pétiolées (avec un pétiole) tandis que les feuilles supérieures sont sessiles (sans pétiole) (13). D'après d'anciens traités de *Materia Medica*, on dénombre environ 3 000 composants de plantes ayant potentiellement des effets thérapeutiques décrits sous le nom évocateur de « principes amers ». Ces composants sont présents dans les trichomes de l'armoise annuelle notamment situés au niveau de ses feuilles, de ses tiges et des bractées de son inflorescence (14). Ces trichomes sont des poils sécréteurs qui tapissent la surface d'un organe végétal et qui contiennent de nombreuses molécules indispensables à la plante.

L'armoise annuelle mesure entre 70 et 160 cm de haut et sa floraison se fait d'août à septembre. Ces plantes sont réparties sur le continent asiatique et européen, notamment dans les régions sauvages, coteaux, bordures de route et berges.

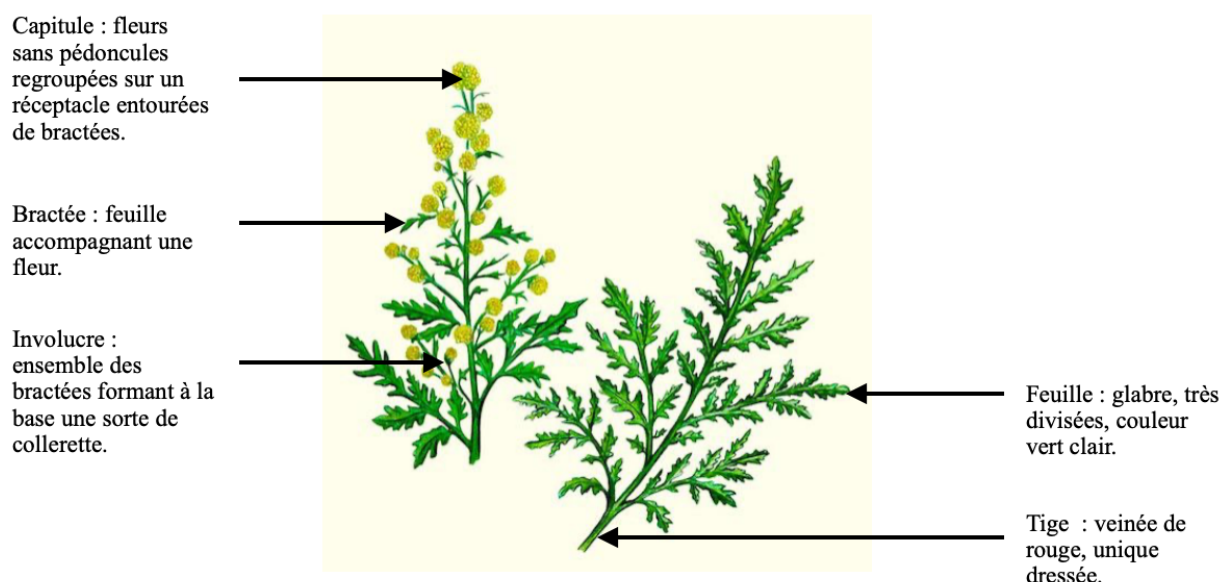


Figure 5 : L'armoise annuelle (15).

L'armoise annuelle durant des siècles a été utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise comme antipyrétique.

B. Découverte de l'artémisinine

Longtemps oubliée, l'armoise annuelle a été redécouverte durant la guerre du Vietnam (1955-1975). De nombreux soldats furent touchés par le paludisme et des résistances de *P. falciparum* à la chloroquine (décrites dans les années 50) se développèrent sur le front. Face à ce constat, les autorités de l'époque mirent en place, sous le contrôle de l'Armée du Peuple, un projet ultra secret, le projet 523. Même si l'objectif initial de ce projet à court terme était de soigner les hommes sur les champs de bataille, l'objectif à long terme était de découvrir de nouveaux médicaments antipaludiques. Durant 14 ans, 500 scientifiques venant de 60 instituts et laboratoires différents, civils et militaires furent mobilisés (16). Ces scientifiques firent un screening de plus de 40 000 produits de synthèse connus ; d'autres étudièrent les nombreux récits décrivant les effets thérapeutiques des plantes fébrifuges connues, et d'autres enquêtèrent auprès des guérisseurs dans les villages à la recherche de leur savoir-faire. Parmi neuf plantes antipaludéennes sélectionnées, une seule retint leur attention : le qinghao plus communément appelé *Artemisia annua*. Les scientifiques constatèrent que dans certaines régions, dès les premiers signes de paludisme, les habitants absorbaient une préparation traditionnelle à base d'armoise annuelle.

L'équipe de Tu Youyou, composée de phytochimistes et de pharmacologues analysa ces préparations et remarqua que l'inhibition de la croissance des parasites s'élevait à plus de 60% avec l'utilisation de l'armoise annuelle (17). Cette plante a par la suite été utilisée dans des études de suivi, mais les résultats n'ont pas été concluants du fait de la méthode d'extraction utilisée par l'équipe, notamment le chauffage à ébullition qui détruisait les composants actifs, n'atteignant ainsi qu'une inhibition de 12% à 40% de la croissance des parasites. Après de nombreuses recherches dans la littérature médicale chinoise, l'équipe a réalisé une extraction à l'éther à plus basse température et l'extract obtenu présentait une meilleure efficacité sur les parasites mais restait toujours toxique. La partie acide qui ne contenait pas d'activité antipaludique, a été retirée donnant un extrait moins toxique et plus performant permettant d'obtenir une inhibition de la croissance du parasite de 100% sur des modèles murins mais aussi sur des singes infectés, en 1971. Les cristaux de haute qualité ont été isolés en 1972 et nommés « Qinghaosu » correspondant à l'artémisinine contenue dans les trichomes de l'armoise annuelle. Pour sa contribution remarquable dans le domaine de la santé humaine, en 2015, le Prix Nobel de médecine a été décerné au professeur Madame Tu Youyou pour la découverte de l'artémisinine permettant une nouvelle prise en charge du paludisme.

Les chercheurs ont ensuite réalisé une série d'études cliniques, pharmacologiques et chimiques permettant de caractériser cette substance active. D'après les résultats chimiques obtenus par l'équipe, l'artémisinine est un cristal aciculaire incolore (14) avec pour formule $C_{15}H_{22}O_5$ (Figure 6).

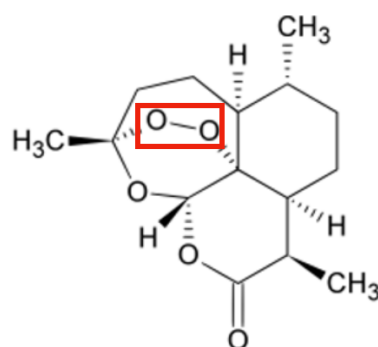


Figure 6 : Structure chimique de l'artémisinine avec sa fonction peroxyde encadrée en rouge (14).

Elle a été identifiée comme une lactone sesquiterpénique contenant une fonction peroxyde (pharmacophore), à l'origine de l'activité antipaludique de la molécule (Figure 6). D'après de récentes études, la voie biosynthétique de l'artémisinine appartient à la voie isoprénoïde végétale, composé obtenu par au moins deux voies de biosynthèse : la voie de l'acide mévalonique (MVA) et la voie 1-désoxy-d-xylulose-5-phosphate (DXP) (14).

En 1973, les chercheurs du projet 523 ont modifié chimiquement le pont peroxyde et les groupes carboxyle de la molécule afin de déterminer les groupes fonctionnels de l'artémisinine. Ils ont produit la désoxyartémisinine par réduction de ce groupe peroxyde en époxy, dans une solution de palladium, carbonate de calcium et de méthanol à température et pression ambiantes. Ensuite après traitement d'une nouvelle solution composée d'acétone et de n-hexane, ils ont synthétisé la dihydroartémisinine (DHA) qui se révélera plus efficace que le composé naturel (Figure 7).

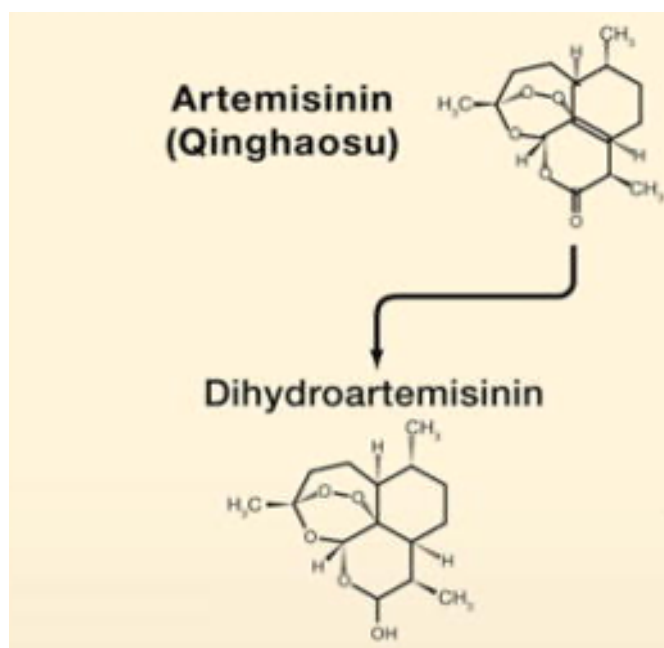


Figure 7 : Obtention de la dihydroartémisinine à partir de l'artémisinine (17).

De nombreux autres dérivés de l'artémisinine tels que l'artésunate ou encore l'artémether, ont pu être obtenus grâce à la DHA, permettant le développement de nouveaux traitements contre le paludisme.

1. Études pharmacologiques de l'artémisinine

L'activité antipaludique sur le stade érythrocytaire a pu être mise en évidence grâce aux recherches *in vitro* et sur des modèles murins. *In vitro*, les résultats ont indiqué que l'apparition de la parasitémie est fortement retardée lorsque des doses de 25 à 50 µg/ml de médicament sont injectées sur les cultures d'érythrocytes. Sur le modèle murin, la parasitémie n'est pas apparue chez des souris infectées ayant reçu des doses d'artémisinine de 125 à 250 µg/ml de médicament, tandis que les souris témoins n'ont pas survécu des suites d'une infection palustre le même jour. En revanche, d'après des études chez le singe, il n'y a pas d'efficacité sur le stade tissulaire (exo-érythrocytaire et pré-érythrocytaire) du fait de l'apparition de la parasitémie dans le groupe contrôle au même moment que le groupe expérimental lorsque la dose d'artémisinine de 200 mg/kg est administrée quelques jours après l'infection dans ce même groupe (18).

Les études de toxicité ont démontré que l'artémisinine a une faible toxicité car les examens physiopathologiques après la prise du médicament ont montré que les modifications d'organes étaient réversibles. En effet, aucune anomalie sur l'ECG, la fonction hépatique et rénale n'a été détectée après la prise de quantité élevée d'artémisinine que ce soit *per os*, en intra-péritonéale ou intramusculaire chez la souris, le chien et le chat. De plus, il n'existe pas d'effets tératogènes sur les souriceaux, ils ne présentaient aucune anomalie apparente et l'activité des spermatozoïdes des souris mâles est restée normale (18).

2. Mécanisme d'action de l'artémisinine

Les premières études de relation structure-activité (18) ont confirmé que le pont peroxyde de l'artémisinine est la structure fondamentale de son activité antipaludique. En effet, les changements structurels causés par ces ponts peroxydes entraîneraient l'effet antipaludéen supposé. Ainsi, la modification de ces ponts produit des radicaux libres et autres dérivés réactifs de l'oxygène, ce qui par conséquent endommage les macromolécules biologiques et suggère que le mécanisme d'action de l'artémisinine est associé aux radicaux libres, engendrés par le pont peroxyde.

De plus, l'hème (cofacteur de l'hémoglobine) et autres macromolécules biologiques jouent un rôle clé dans l'activation de l'effet antipaludique de l'artémisinine. Les scientifiques ont découvert que certaines substances qui piègent les radicaux libres, telles que la catalase antioxydante, le tocophérol ou encore le glutathion, diminuent l'activité antipaludique. En revanche, les médicaments qui augmentent la tension en oxygène ou qui produisent des radicaux libres augmentent l'effet antipaludique de l'artémisinine.

D'autre part, en présence d'hème, l'artémisinine peut provoquer la peroxydation des lipides de la membrane cellulaire et l'inhibition de l'activité ATPase. D'après de récentes études, l'artémisinine peut inhiber l'hydrolyse de l'hémoglobine catalysée par les lysats de vacuoles digestives de *Plasmodium spp.* En effet, dans l'étude de Daniel L. Klayman (19), les chercheurs ont étudié et examiné à intervalle régulier des échantillons de sang de souris infectées par *Plasmodium berghei*, ayant une parasitémie supérieure à 10% et ayant reçu des doses d'artémisinine par voie orale. Ils ont remarqué que huit heures après la prise de l'artémisinine, les trophozoïtes ont commencé à montrer des changements morphologiques tels qu'une déformation et le gonflement de la vacuole digestive et que cet effet était dose-dépendant. Au bout de 12 à 14 heures, la plupart des trophozoïtes en phase de croissance montraient des tourbillons dans leur vacuole digestive, ainsi qu'un gonflement des membranes mitochondriales et nucléaires externes du fait de l'augmentation des taux de calcium intracellulaire provoquant la mort des parasites de *Plasmodium* (18).

3. Pharmacocinétique de l'artémisinine

Les chercheurs ont remarqué qu'après administration par voie orale, l'artémisinine marquée au ^3H a été rapidement absorbée donnant une concentration plasmatique maximale en une à deux heures (19). Cependant, elle n'est pas complètement absorbée et sa biodisponibilité reste faible : environ 19 à 35 % par voie orale. La demi-vie d'artémisinine dans le sang est de quatre heures puis est progressivement éliminée.

La distribution dans les différents organes est elle aussi rapide, en une heure, et diminue de façon parallèle à la diminution des quantités présentes dans le sang (18). Elle se fait dans les principaux organes vitaux, cependant elle est principalement distribuée dans la vésicule biliaire, le foie et les reins.

Le métabolisme de l'artémisinine est localisé de façon majoritaire dans le foie, notamment lors de la phase I par les isoenzymes du cytochrome P450, CYP2B6 et CYP3A4 (14) permettant la conversion de l'artémisinine et ses dérivés en dihydroartémisinine.

La dose orale de l'artémisinine est excrétée à 80% (urine et selles) seulement 24 heures après son administration par voie orale (18).

4. Études cliniques de l'artémisinine

Tout d'abord, il a fallu déterminer la voie d'administration la plus appropriée de l'artémisinine du fait de son insolubilité dans l'eau. En trois doses fractionnées, quatre formes ont alors été étudiées : les comprimés (*per os*), l'huile provenant des graines d'armoise annuelle (*per os*), une suspension aqueuse et une suspension huileuse d'artémisinine par voie intramusculaire (IM). La rapidité d'action de chaque forme pharmaceutique pour baisser la fièvre et permettre l'élimination des parasites chez les patients atteints de *P. vivax* a été obtenu dans cet ordre : comprimés > huile > suspension huileuse > suspension aqueuse (19).

Ensuite, l'efficacité clinique de l'artémisinine a été étudiée par rapport aux autres molécules déjà présentes dans la prise en charge du paludisme. D'octobre 1980 à mars 1981, des études cliniques ont été réalisées dans le sud de la Chine sur des patients fébriles atteints du paludisme à *Plasmodium falciparum* (ayant un frottis sanguin positif). Ces patients ont été admis à l'hôpital pour une durée de sept jours après la prise du médicament, puis examinés à J₁₄, J₂₁, J₂₈, J₄₀, J₅₀ et J₆₀. La prise du médicament était effectuée lorsque le frottis sanguin présentait des trophozoïtes au stade de petit anneau soit six heures après pénétration du parasite dans les globules rouges. A ce moment-là, les patients se sont vu attribuer soit 1,0 g d'artémisinine, soit 1,0 g de méfloquine (*per os* ou IM). La parasitémie des patients sous 1,0 g d'artémisinine diminuait plus rapidement que les patients ayant reçu 1,0 g de méfloquine : 95% en 20 heures pour l'artémisinine contre 28 heures pour la méfloquine (20).

Malgré la rapidité d'action de l'artémisinine par voie orale, le taux de recrudescence un mois après la prise est deux fois plus élevé pour l'artémisinine que la méfloquine. Cela est dû à sa courte demi-vie lorsqu'elle est administrée par voie orale (de quatre heures chez la souris) contrairement à la méfloquine qui a une demi-vie longue dans le sang permettant ainsi de détruire les cycles successifs des trophozoïtes survivants jusqu'à ce qu'aucun ne reste viable.

Ce taux de recrudescence élevé a été pour la première fois décrit en 1974, dans des essais cliniques impliquant le traitement de patients atteints de paludisme avec de l'artémisinine purifiée. Il a été montré que malgré un taux de guérison élevé, sa courte demi-vie pharmacologique était insuffisante pour maintenir les concentrations de médicament au-dessus de la dose thérapeutique nécessaire pour tuer le parasite tout au long de son cycle de vie (21).

C. Les dérivés de l'artémisinine

Les études sur la relation structure-activité ont révélé une meilleure efficacité de certains composés lorsqu'ils sont structurellement modifiés. En effet, du fait de sa structure, l'artémisinine est une molécule qui est difficile à synthétiser de façon artificielle et à faible coût. De plus sa biodisponibilité étant limitée, les chercheurs ont converti chimiquement l'artémisinine en de nombreux dérivés permettant d'améliorer quelques-unes de ses propriétés (biodisponibilité, solubilité, *etc.*).

1. Dihydroartémisinine (DHA ou artéminol)

Après réduction du groupe carboxyle cétone de l'artémisinine avec le borohydrure de sodium, l'introduction d'un groupe hydroxyle dans la structure améliore l'activité antipaludique de la molécule. Cette approche a permis d'obtenir l'une des seules voies de synthèse pour obtenir des dérivés d'artémisinine avec une activité antipaludique améliorée tels que l'artéméther, l'artésunate et d'autres dérivés (Figure 8).

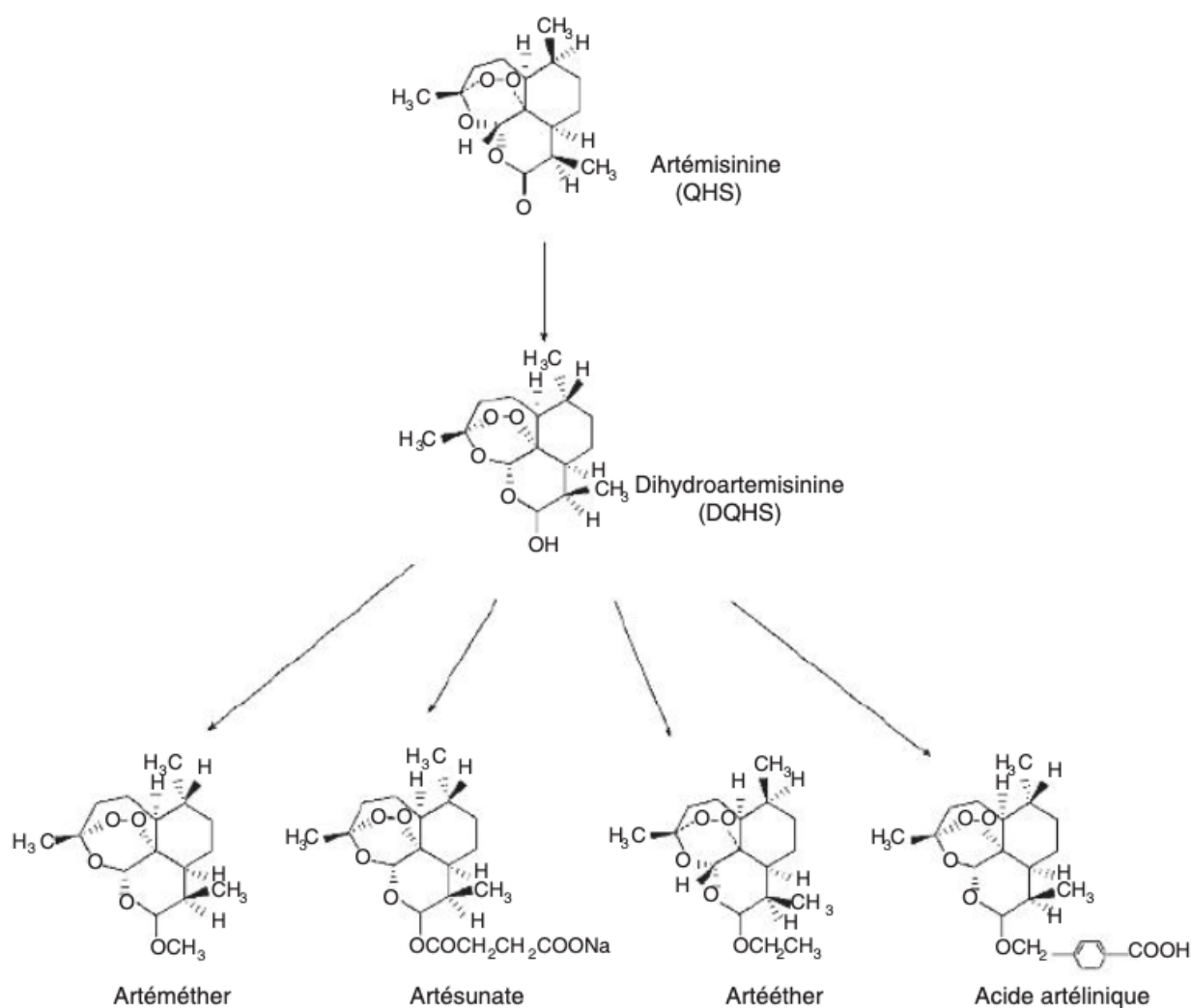


Figure 8 : Les principaux dérivés de l'artémisinine (14).

Tableau IV : Principales caractéristiques de la dihydroartémisinine (=arténimol).

Nom chimique	(3R,5aS,6R,8aS,9R,12S,12aR)-octahydro-3,6,9-triméthyl-3,12-époxy-12H-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxépin-10(3H)-one
Formule moléculaire	C ₁₅ H ₂₄ O ₅
Poids moléculaire	284,35 g/mol
Médicament commercialisé (disponible en Europe)	Eurartésim® (Pipéraquine 320 mg/Arténimol 40 mg)

Les différentes études de la dihydroartémisinine ont permis de mettre en évidence sa rapidité d'action, sa faible toxicité et son efficacité élevée. En effet, la dihydroartémisinine est cliniquement 10 fois plus puissante que l'artémisinine. De plus, en comparaison avec l'artémisinine, les études de Tu Youyou recensent beaucoup moins de récurrence du paludisme lors du traitement de celui-ci avec la dihydroartémisinine (14).

Pour augmenter l'efficacité de ces dérivés, en 2001 la première combinaison thérapeutique à partir d'artémisinine (CTA) a été étudiée et a permis de réduire massivement le nombre de décès dus au paludisme. Ces CTA sont composées de deux molécules : l'une semi-synthétique dérivée de l'artémisinine (DHA, artéméther, artésunate, ...) et l'autre molécule synthétique (pipéraquine, luméfantrine, ...) ayant pour action d'augmenter l'effet de cette première. La synergie de cette bithérapie permet ainsi de diminuer le risque d'émergence de résistances vis-à-vis du parasite (22). La DHA, aussi appelée arténimol, associée à la pipéraquine, est commercialisée sous le nom d'Eurartésim® qui est indiquée dans le traitement du paludisme non compliqué causé par *P. falciparum* chez les adultes, les adolescents, les enfants et les nourrissons âgés de 6 mois et plus et pesant 5 kg ou plus (23).

Il existe quatre autres CTA qui sont elles aussi, depuis 2006, recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour une durée de trois jours dans les formes non sévères de paludisme à *Plasmodium falciparum* (22) :

- Artéméther-luméfantrine,
- Artésunate-amodiaquine,
- Artésunate-méfloquine,
- Artésunate sulfdadoxine-pyriméthamine.

2. Artésunate

L'artésunate est un dérivé obtenu à partir de la dihydroartémisinine après réaction avec l'anhydride succinique en présence de pyridine puis neutralisation avec de l'acide chlorhydrique dilué.

Tableau V : Principales caractéristiques de l'artésunate.

Nom chimique	(3R,5aS,6R,8aS,9R,10S,12R,12aR) -décahydro-3,6,9-triméthyle-3,12-époxy-12H-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepine-10-ol, acide succinique hydrogéné
Formule moléculaire	C ₁₉ H ₂₈ O ₈
Poids moléculaire	384,43 g/mol
Médicaments commercialisés	Malacef® (Artésunate IV) Coarsucam™ (Artésunate/Amodiaquine)

L'artésunate est rapidement absorbé dans le corps humain (0,5 heure après l'injection), et plus efficace à la plus faible concentration pour l'inhibition totale de la maturation complète des schizontes du *P. falciparum*.

En monothérapie, cette molécule est le traitement de premier choix de réanimation médicale contre le paludisme à *P. falciparum* compliqué (**Malacef®**) chez les adultes et les enfants.

3. Artéméther

A l'origine, l'artéméther était obtenu par le traitement d'une solution méthanolique de la DHA avec de l'éthérate de trifluorure de bore. L'objectif principal était d'obtenir des dérivés qui présentaient une plus grande stabilité lorsqu'ils sont dissous dans des huiles pour permettre une utilisation parentérale (24). De nos jours, l'artéméther est obtenu par éthérification de la DHA en milieu chlorhydrique par du méthanol puis purifié par chromatographie et recristallisation dans du méthanol.

Tableau VI : Principales caractéristiques de l'artéméther.

Nom chimique	(3R,5aS,6R,8aS,9R,10S,12R,12aR) -décahydro-10-methoxy-3,6,9-triméthyl-3,12-époxy-12H-pyrano(4,3-j)-1,2-benzodioxépine
Formule moléculaire	C ₁₆ H ₂₆ O ₅
Poids moléculaire	298,37 g/mol
Médicaments commercialisés	Riamet®, Coartem® (artéméther 20 mg/ luméfantrine 120 mg)

L'artéméther, après résorption par la muqueuse digestive, est rapidement transformé en dihydroartémisinine par le foie (déméthylation par le CYP450 3A4), et va être efficace pour éliminer les schizontes dans le sang des souches sensibles à la chloroquine de *P. vivax* et *P. falciparum* (25). Ces associations, Riamet® et Coartem®, sont indiquées dans le traitement de l'accès palustre non compliqué à *P. falciparum* depuis les années 2000, première fois où cette CTA a été utilisée à grande échelle.

D. Mode de production d'*Artemisia annua*

Artemisia annua est une plante herbacée originaire d'Asie, elle est naturellement présente dans la végétation steppique dans le nord de la Chine. On la retrouve également en Europe à l'état sauvage dans de nombreux pays comme la Bulgarie, la France, la Hongrie, l'Italie ou encore la Roumanie (Figure 9). Depuis les années 90, elle a été introduite sur le continent africain pour y installer de grandes plantations notamment à Madagascar et en Afrique de l'Est (Éthiopie, Tanzanie) mais aussi en Amérique du Sud.

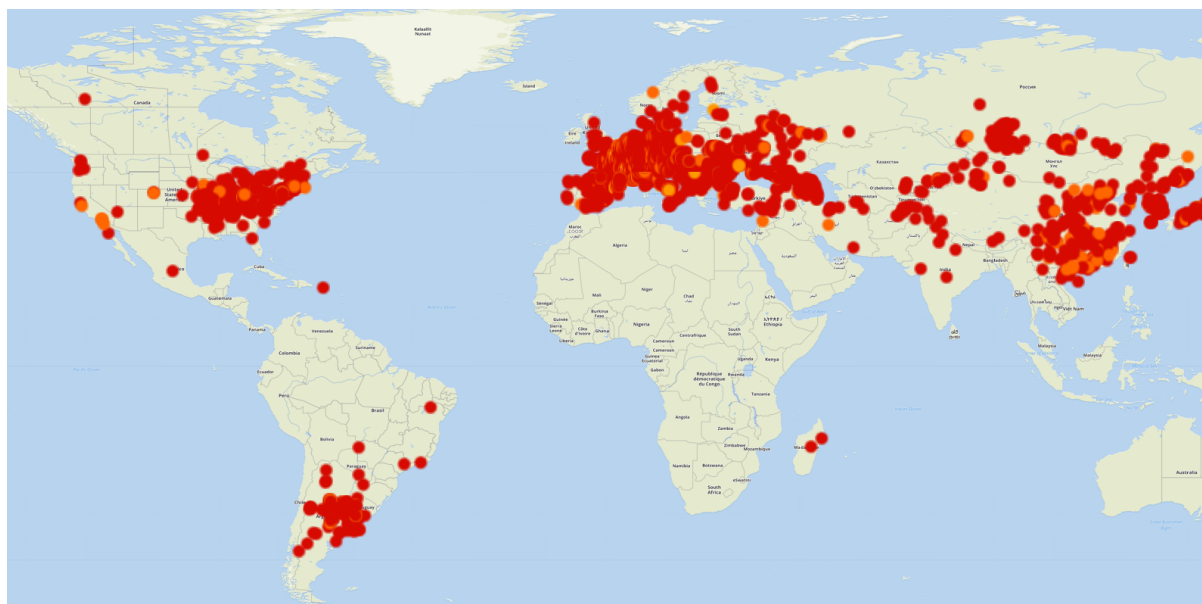


Figure 9 : Cartographie de la présence naturelle de *Artemisia annua* dans le monde (26).

1. Conditions de cultures

La qualité de la culture dépend de nombreux paramètres tels que la zone géographique (température, précipitations, sols), l'espèce et l'origine des graines des plants ainsi que les méthodes agricoles utilisées. Tous ces paramètres feront varier la quantité d'artémisinine présente dans la plante.

a) Périodes de récoltes

Les périodes de semis et de récoltes sont très dépendantes du climat présent dans le lieu de culture. En climat tempéré, les cultivateurs rapportent des dates de semis allant de janvier à avril avec des dates de récoltes de fin août à début septembre. De plus, la période où la plante est marquée par une forte activité (croissance, fructification) s'étend de mai à août (Figure 10).

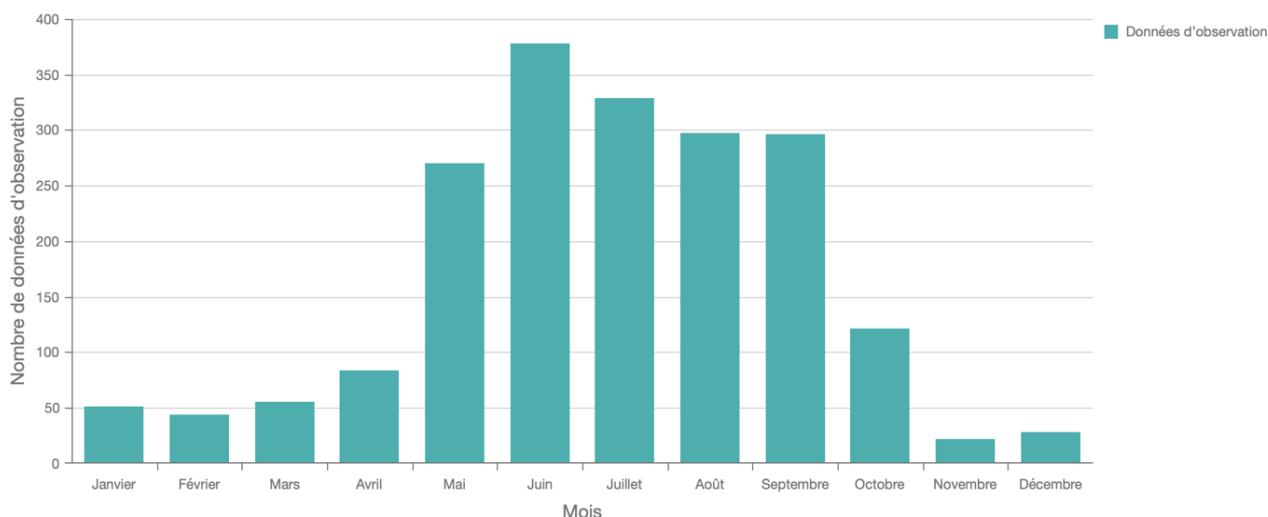


Figure 10 : Graphique représentant la saisonnalité de *Artemisia annua* (26).

b) Climat propice

En climat tropical, on a des saisons sèches ainsi que des saisons des pluies. La saison des pluies étant plus propice au développement de la plante, les rendements en métabolites y seraient meilleurs. Une floraison précoce des plantes entrave le développement de sa biomasse et par conséquent engendre un faible taux en métabolites. En revanche, une floraison tardive va permettre à la plante de développer ses feuilles, ses tiges, ses racines, lui donnant un stockage plus conséquent pour ses métabolites. *Artemisia annua* est une plante à floraison de jours courts, ce qui bloque sa production en zone tropicale car elle va fleurir avant d'avoir accumulé suffisamment de métabolites dont l'artémisinine. Elle n'est donc pas naturellement adaptée à la culture dans ces régions (14), cependant certains hybrides le sont.

De plus, *A. annua* est une plante tempérée qui a besoin d'hivers froids et d'étés modérés : sa température optimale de croissance se situe entre 20 à 25°C (27). Il a été constaté que la teneur en artémisinine est plus élevée dans un climat plus frais (17,6 à 28,4°C) par rapport au climat subtropical. L'ombrage ainsi qu'une température plus élevée réduisent la teneur en artémisinine.

c) La luminosité

La luminosité a aussi une place importante dans la production d'artémisinine. En effet, c'est un facteur important affectant la croissance, l'organogenèse et la formation de composés végétaux notamment les métabolites primaires et secondaires. La lumière va avoir un effet stimulant sur la formation de composés dont les flavonoïdes et les anthocyanes, mais est aussi impliquée dans la régulation du mécanisme de sécrétion des produits secondaires dont l'artémisinine (28). La photopériode nécessaire pour cette plante est comprise entre 12 et 16 heures (29).

d) L'eau

L'eau et l'humidité sont essentielles pour la réalisation des semis. Il faut garder la graine dans une atmosphère humide et arroser abondamment si elles sont plantées en saison sèche car cette humidité est essentielle à la germination de la graine (30). Les champs doivent être par conséquent irrigués fréquemment depuis les semis jusqu'à l'établissement de la culture. Ensuite, seulement trois à quatre irrigations sont nécessaires jusqu'à la récolte et doivent être interrompues une dizaine de jours avant.

Un trop fort taux d'humidité entraînerait la pourriture des racines et le développement de mauvaises herbes. De plus, les conditions optimales de précipitations annuelles se situent entre 1150 à 1350 mm notamment durant la phase de croissance.

e) Le sol

Même si certaines sélections d'armoise annuelle sont intolérantes aux sols acides (pH 5,0-5,5) (31), de nombreux types de sols pourraient être utilisés dans une gamme allant d'un pH 4,5 à 8,5 (29). La terre doit être labourée deux à trois fois pour produire une fine couche avant que les semis ne soient repiqués. Elle doit être mise en lits de taille convenables après application de la dose recommandée de fumier (10 T/ha) et d'engrais avant la plantation.

De plus, *Artemisia annua* est très sensible aux carences en bore et en fer, contrairement au cuivre, manganèse et zinc, provoquant un effet inhibiteur sur sa culture, réduisant sa croissance et sa teneur en artémisinine.

2. Modalités pratiques

De façon générale, dans les différentes cultures des grandes industries pharmaceutiques, les modalités pratiques suivent les directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) (32).

a) Ensemencement

La méthode la plus pratique et la plus économique pour l'artémisinine à usage commercial est l'ensemencement avec des graines (14). La sélection des graines est donc une étape déterminante : elles doivent obligatoirement provenir de plantes de l'espèce *Artemisia annua*. En effet, les graines ayant d'autres origines présentent une différence marquée au niveau génétique induisant une teneur en artémisinine allant de 0,01% à plus de 1,0% (27). La teneur en artémisinine est le principal facteur limitant dans la culture, différentes hybridations ont permis d'obtenir l'hybride *Artemis* (croisement entre clones chinois et vietnamiens) qui peut produire jusqu'à 2% d'artémisinine sur une base de poids sec. Le succès de la culture d'*A. annua* sous des climats tropicaux comme l'Afrique repose actuellement sur la sélection de clones, tel que *Artemis* qui présente un rapport plus élevé feuilles sur tiges, permettant une culture à plus large gamme de latitude ou encore de photopériode (33).

b) Repiquage

Les méthodes de culture dans les différentes zones où *Artemisia annua* est cultivée restent similaires. Après avoir réalisé le semis de ces très petites graines (plus de 10 000 graines par gramme) dans des pépinières où toutes les conditions optimales de croissance (irrigation, lumière, engrais) ont été regroupées, le repiquage est réalisé lorsque le semis devient trop dense, c'est-à-dire quand les plants atteignent une hauteur de 15 cm, en pleine terre (Figure 11).

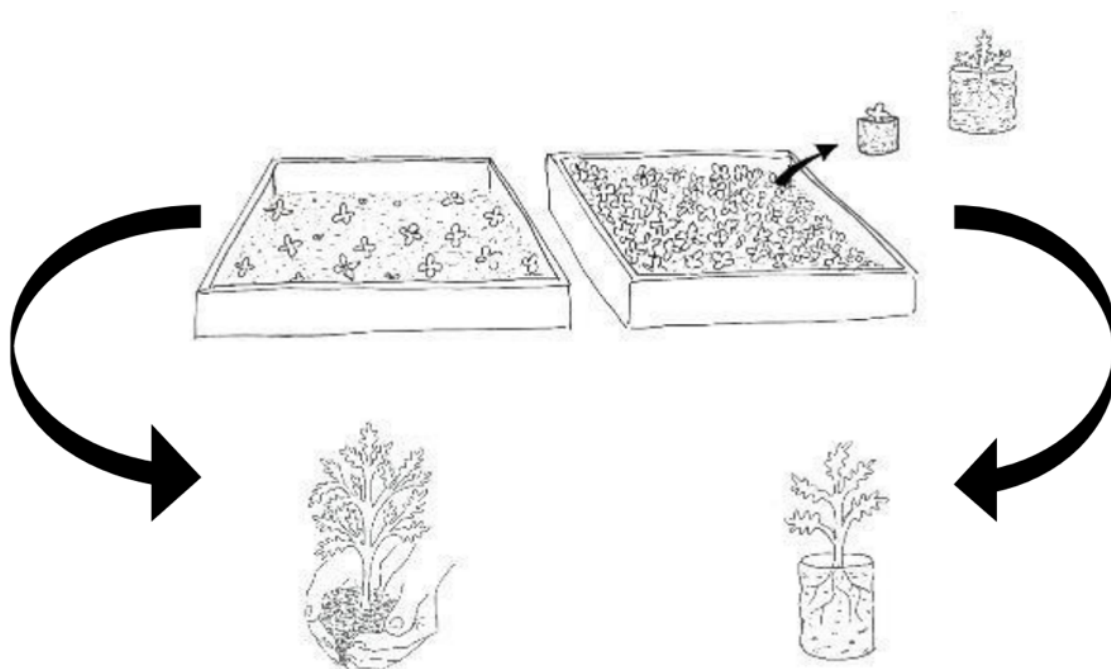


Figure 11 : Repiquage des plants en pépinière en fonction de la densité des semis en pleine terre (34).

La croissance des plants nécessite plusieurs semaines, puis en fonction de la zone climatique (1,5 à 2 mètres en zone tempérée et 80 cm en zone tropicale) vient ensuite la récolte, qui se réalise habituellement quatre à cinq mois après la plantation et qui consiste à couper les plants à leur base puis à les étaler sur un tissu pour le séchage (35).

c) Récolte

La récolte de la plante s'effectue lors d'un jour ensoleillé pour faciliter le séchage car il doit être réalisé autour d'une température avoisinant les 40-60°C. Les feuilles sont récoltées avant et pendant la floraison, puis séchées soit en les suspendant (pour les plus grandes) soit en les disposant sur du papier (pour les plus petites). La récolte des feuilles se fait avant la floraison, c'est-à-dire lorsque les boutons floraux sont petits, ronds et verts (Figure 12a) ou pendant la production de fleurs, c'est-à-dire lorsque les fleurs sont très petites, jaunes et discrètes (Figure 12b).



Figure 12a : Boutons floraux d'Artemisia annua (36).

Figure 12b : Plant d'Artemisia annua en cours de floraison (36).

En revanche, dès que les fleurs fanent, la teneur en molécules actives, dont l'artémisinine, chute rapidement et les feuilles ne peuvent plus être utilisées à des fins médicinales (34).

Outre les nombreux paramètres comme vu précédemment, d'autres vont venir influencer la concentration en artémisinine de l'armoise annuelle notamment la maturité des plants. Les jeunes plants d'*Artemisia annua* ne contiennent pas d'artémisinine ce qui implique qu'il n'y a pas d'activité antipaludique. Ce n'est qu'au cours du temps que l'acide artémisinique sera converti en divers lactones sesquiterpéniques (voir Tableau VII) arrivant à une teneur intéressante environ six mois après la plantation des semis en terre. L'acide artémisinique est un sesquiterpène amorphe qui a été isolé pour la première fois en 1981 par le groupe de recherche du professeur Tu Youyou. Sa conversion chimique permet ainsi d'obtenir les divers sesquiterpènes de la plante mais aussi une partie significative de l'artémisinine l'autre étant l'acide dihydroartémisinique (37).

Tableau VII : Comparaison des constituants chimiques entre les jeunes plants et les plants adultes de l'armoise annuelle (14).

Période de récolte	Lactone Sesquiterpène	Acide organique	Flavonoïdes	Autre
Jeune plante	Aucun	Acide artémisinique	3,5-dihydroxy-6,7,3',4'-tétraméthoxy flavonol	Octacosanol, β -sitostérol, stigmastérol
Plante adulte	Artémisinine, arteannuin A, arteannuin B, arteannuin C, arteannuin D, arteannuin E	Acide artémisinique	3,5-dihydroxy-6,7,3',4'-tétraméthoxy flavonol, 5-hydroxy-3,6,7,4'-tétraméthoxy flavone, 5-hydroxy-3,6,7,3',4'-pentaméthoxy flavone, 5,3',4'-trihydroxy-3,6,7-triméthoxy flavone	Octacosanol, β -sitostérol, stigmastérol, coumarine, scopoletin, scopolétine, acétate d'aurantiamide

De ce fait, pour une utilisation pharmaceutique, les jeunes plants d'*Artemisia annua* ne sont pas appropriés contrairement aux plants adultes qui vont posséder une activité antipaludique étant donné la présence de lactones sesquiterpéniques (14).

Après avoir vu que les plants adultes possèdent une activité antipaludique, on remarque aussi qu'en fonction de la partie médicinale choisie de ces plants adultes la teneur en artémisinine n'est pas équivalente dans toute la plante (voir Tableau VIII). En effet, l'artémisinine est retrouvée principalement dans les parties aériennes de la plante : feuilles et inflorescences, et en quantité moindre dans la tige. Elle est absente des racines et du pollen car ils ne contiennent pas de trichomes glandulaires qui sont des groupes de cellules spécialisées dans la synthèse d'artémisinine. L'artémisinine est parfois retrouvée dans la graine, sans doute du fait de la présence de résidus floraux car les graines ne possèdent pas de trichomes glandulaires (38).

Tableau VIII : Comparaison de la teneur en artémisinine dans les différentes parties médicinales de l'Artemisia annua par rapport à la période de récolte et de conservation (14).

Période de récolte	Partie médicinale	Artémisinine (%)		
		Premier	Deuxième	Moyen
Beijing, 12 juillet	Feuilles	0,11	0,09	0,10 ± 0,01
	Tiges	Non	Non	
Beijing, 10 août (avant floraison)	Feuilles	0,13	0,11	0,12 ± 0,01
	Tiges	Non	Non	
Beijing, 14 août (période de bourgeonnement)	Feuilles	0,15	0,16	0,16 ± 0,01
	Tiges	Non	Non	
	Fleurs	0,20	0,23	0,22 ± 0,02
	Feuilles	0,23	0,25	
Beijing, 21 août (Floraison)	Tiges	Non	Non	0,24 ± 0,01
	Fleurs	0,52	0,56	
	Feuilles	0,12	0,11	
Beijing, 29 août (Floraison)	Tiges	Non	Non	0,12 ± 0,01
	Fleurs	0,14	0,27	
	Feuilles			

Pour éviter les soucis de conservation des plantes, la quantité récoltée ne doit pas être supérieure à la quantité de plantes pouvant être traitée dans la journée. Les principes actifs vont être conservés sous formes de teintures, d'extraits fluides ou secs à pourcentage connu avant d'être utilisés pour les préparations pharmaceutiques (39).

d) Séchage

Afin d'éviter moisissures et fermentation, l'OMS rappelle que les conditions de séchage des matières végétales vont exercer une influence considérable sur leur qualité ainsi que sur leur teneur en principes actifs (32).

Les méthodes de séchage sont très discutées dans la littérature, pour certains l'exposition au soleil est néfaste (Laughlin 2) alors que pour d'autres, elle est favorable (Simonnet 3). Dans l'étude ACP-Paludisme (30), la teneur en artémisinine est de 0,30% quand les plants sont séchés au soleil et de 0,36% quand ils sont séchés à l'ombre. Dans cette étude le séchage à l'ombre est préférable pour obtenir une concentration en artémisinine plus importante. Au contraire, d'autres études montrent que le séchage au soleil permettrait la bioconversion de l'artémisinine (43% pour les plantes séchées au four contre 94% pour les plantes séchées au soleil) et augmenterait la concentration en molécules actives contre le paludisme (catéchines, flavonoïdes, etc...) (34).

Dans l'étude de Jorge F. S. Ferreira (40), différents séchages possibles pour les plants d'*Artemisia annua* ont été comparés : séchage à l'ombre, séchage au soleil pendant une à trois semaines, séchage au four à 45°C avec ventilation pendant 12 à 24 heures et séchage par lyophilisation. Les données obtenues indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre le séchage à l'ombre et au soleil. Par ailleurs, ces deux techniques de séchage ont légèrement amélioré la teneur en artémisinine par rapport au séchage au four et à la lyophilisation (Figure 13).

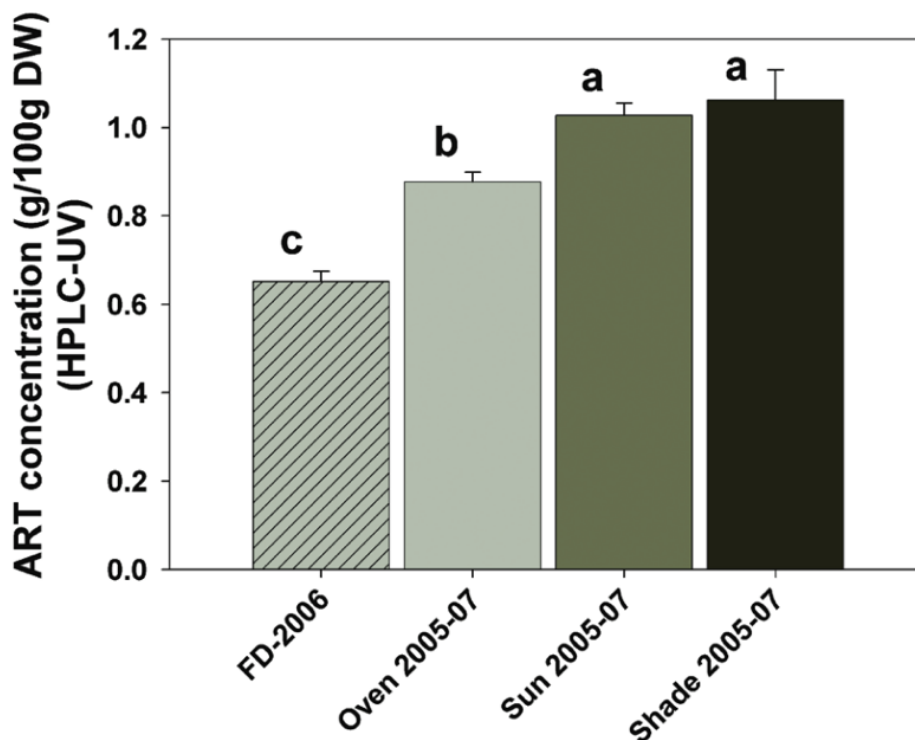


Figure 13 : Concentration de l'artémisinine en fonction des différents modes de séchages des plants *Artemisia annua* (40).

Il semblerait que les conditions optimales pour le séchage soient un séchage à température faible ne dépassant pas 20°C, plutôt à l'ombre avec un faible taux d'humidité pour éviter moisissures et fermentation des plants. De plus, quel que soit le séchage, la concentration en artémisinine augmente pendant les trois premiers jours après la récolte des plants d'*Artemisia annua*, sa biosynthèse étant déclenchée par le séchage (40). Étant donné les nombreux paramètres exposés précédemment, la quantité d'artémisinine présente dans les feuilles reste très variable : de 0,02% à 1,07% pour les plants non hybrides allant jusqu'à 1,38% pour les plants hybrides.

Une fois que les feuilles sont séchées, elles ont une bonne stabilité et la concentration d'artémisinine reste satisfaisante les trois années suivant le séchage à condition qu'elles soient conservées dans un endroit sec et à l'ombre. Cependant, lors de la réalisation de tisane à base de feuilles d'armoise annuelle la durée de conservation est brève. La tisane, conservée à température ambiante, doit être utilisée dans les 24 heures maximum après infusion des feuilles (30).

3. Alternatives

Actuellement, la principale source commerciale du médicament est extraite des feuilles de l'armoise annuelle cultivée en plein champs en Asie, Afrique et Amérique du Sud principalement, qui sont sujettes à des variations saisonnières et somatiques, et à une infestation d'insectes, de bactéries ou encore de champignons qui peuvent affecter le contenu médicinal de la plante (28). Sanofi et PATH ont développé un nouveau processus de fabrication alternatif d'artémisinine semi-synthétique pour un approvisionnement stable et abordable d'artémisinine à l'échelle mondiale (41). Ce procédé industriel innovant consiste en la fabrication par biologie synthétique de l'acide artémisinique, suivie de transformations chimiques en artémisinine (42). D'autres alternatives sont en cours de développement afin d'améliorer le rendement, encore trop fluctuant, qui pourrait atteindre huit kilogrammes par tonne d'armoise annuelle sèche, par la production d'artémisinine par des bactéries transgéniques (31) ou encore par la culture de tissus *in vitro* de cette plante. Mais le marché de cette molécule, tout comme son prix, est inconstant d'où l'émergence de médecines alternatives prônant les bienfaits de la molécule à bas coût.

E. Concentration efficace

Dans la pharmacopée chinoise, on retrouve les traitements traditionnels contre le paludisme basés sur la prise quotidienne de tisanes à base de plantes fébrifuges. Il existe différents procédés pour obtenir une tisane :

- Utilisée pour les drogues à mucilages comme les graines de lin, la macération consiste à laisser la plante en contact avec l'eau pendant 10 à 12 heures à couvert ;
- Utilisée pour les drogues dures comme le bois ou les racines, la décoction est une méthode d'extraction des principes actifs par dissolution dans de l'eau en ébullition.
- Utilisée pour les drogues tendres des végétaux comme les feuilles ou les fleurs, l'infusion s'élabore en versant de l'eau portée à ébullition sur les plantes à infuser (39).

Pour le traitement du paludisme, la méthode la plus recommandée consiste à ajouter 5 g de feuilles séchées d'*Artemisia annua* dans un litre d'eau bouillante, puis après un bref mélange, laisser refroidir la tisane pendant 15 minutes et filtrer. Cependant, l'artémisinine étant un composé peu soluble dans l'eau, Mueller *et al.* ont étudié l'extraction de l'artémisinine par des méthodes conventionnelles de préparation du thé (43). D'après les résultats obtenus, l'artémisinine chimiquement pure est faiblement dissoute dans l'eau contrairement aux préparations de thé à base de feuilles d'*A. annua* qui contiennent des quantités plus élevées d'artémisinine (Tableau IX).

Tableau IX : Teneur en artémisinine dans les infusions (méthode A) ou les décoctions (méthode B) à base de feuilles A. annua (43).

Amount of material per l water	Method of tea preparation	Artemisinin concentration in the tea (mg/l)	Extraction efficiency (%)
Pure artemisinin (250 mg)	A	10.6	—
Leaves (5 g)	A	12.0	41.4
Leaves (10 g)	A	24.5	42.2
Leaves (20 g)	A	32.8	28.3
Leaves (40 g)	A	64.4	27.8
Leaves (5 g)	B	7.2	24.8

De plus, cette concentration est moins importante pour la méthode B avec 7,2 mg/l d'artémisinine pour 5 g de feuilles contre 12,0 mg/ml pour la méthode A avec la même quantité de feuilles. Cette différence de concentration entre l'infusion et la décoction, où les feuilles sont chauffées jusqu'à leur point d'ébullition, est due à l'instabilité de l'artémisinine à la chaleur.

Le tableau IX indique qu'un traitement de cinq jours avec 5 g de feuilles d'*A. annua* préparées sous forme d'infusion peut entraîner une dose totale d'environ 60 mg d'artémisinine (12,0 x 5). L'artémisinine pure, qui est peu soluble dans l'eau et qui a une biodisponibilité inférieure à 32%, est utilisée à une dose de 500 mg par jour sur une période de cinq jours (44). Ainsi, dans l'étude de Mueller *et al.*, ces infusions permettent d'obtenir seulement 2,4% par jour de la dose d'artémisinine pure recommandée. De plus, la prise de préparations de thé ne peut pas reproduire les taux sanguins de métabolites actifs (DHA) qui sont avérés efficaces contre le paludisme alors que la dose clinique habituelle des dérivés de l'artémisinine est comprise entre 500 et 1000 mg. Il a été démontré que des concentrations nanomolaires de dérivés de dihydroartémisinine et d'artéméther inhiberaient la croissance de *P. falciparum in vitro* alors qu'il fallait 100 fois cette concentration d'artémisinine elle-même (45).

D'autres études montrent qu'il semble possible de dépasser le seuil de concentration plasmatique d'artémisinine de 9 ng/ml permettant une inhibition de la croissance du parasite (46). Par ailleurs, plusieurs doses quotidiennes sont nécessaires afin d'obtenir une concentration plasmatique efficace permanente par rapport à des concentrations intermittentes (47). Ainsi, la prise de ces tisanes doit se réaliser sur une période suffisamment longue pour obtenir cette concentration plasmatique permanente afin qu'une inhibition des parasites puisse être observée.

Des études *in vitro* ont montré que d'autres métabolites présents dans *Artemisia annua*, améliorent l'activité antipaludique de l'artémisinine, notamment les flavonoïdes, pouvant être à l'origine d'une certaine efficacité clinique contre le paludisme (48). En effet, environ 40 flavonoïdes ont été isolés d'*A. annua* et certains d'entre eux ont confirmé la potentialisation de la bioactivité de l'artémisinine (49). D'autre part, *A. annua* représente un réservoir élevé de sesquiterpènes, dont l'artémisinine, et de flavonoïdes mais aussi de terpènes, phénols, et acétylènes et coumarines. Ce réservoir, aussi appelé totum, représente l'ensemble des molécules actives et utiles de la plante. L'activité antipaludique d'*A. annua* n'est certainement pas liée seulement à l'artémisinine mais à l'association de ces nombreuses molécules présentes dans la plante à l'origine de cette propriété pharmacologique. Cependant, ces études *in vitro* ne peuvent être le seul argument pour l'utilisation de ces préparations à base de feuilles d'*A. annua*, le risque étant le développement de résistances ce qui rend nécessaire des essais cliniques plus approfondis avec l'inclusion de groupes témoins.

IV. Partie 3 : Essais cliniques et applications réelles chez l'Homme

L'engouement de ces préparations à base d'*Artemisia annua* dans la population s'explique par ces différents facteurs : économique, médiatique et commercial. Tout d'abord, le coût des CTA sur le continent africain est le principal inconvénient de ces thérapies conventionnelles. En effet, la plupart des ménages africains n'ont pas les moyens d'acheter ces produits médicamenteux afin de se soigner. En plus du prix, se rajoute la défiance des populations envers les systèmes de santé due aux difficultés d'approvisionnement rencontrées dans certaines régions ainsi que le trafic des médicaments falsifiés. La population locale préfère alors s'orienter vers des alternatives plus naturelles, faciles à préparer et surtout beaucoup moins onéreuses. Cet engouement est soutenu notamment par une association luxembourgeoise « ivfb-belherb » ayant pour message : chaque village africain doit apprendre à planter des pieds d'*Artemisia* dans un jardin, récolter et sécher les feuilles pour disposer ainsi d'un « médicament maison » permettant de traiter chaque accès palustre sans qu'il soit nécessaire de consulter un agent de santé ou d'absorber un CTA, l'un et l'autre n'étant pas toujours disponibles (50). L'ensemble de ces campagnes médiatiques par le biais d'associations, de reportages (51) ou de livres (52), incitent ainsi les populations touchées par le paludisme à la production et à la consommation d'infusions à base d'*A. annua* dans le traitement et la prophylaxie du paludisme. Actuellement en France, seule l'association « La maison de l'*Artemisia* » promeut l'efficacité d'*A. annua* et encourage l'utilisation de celle-ci par l'intermédiaire d'articles scientifiques énoncés sur son site (53) dont ils vont être analysés et critiqués dans cette troisième partie.

A. La promotion des tisanes d'armoise annuelle dans le monde scientifique

1. Étude de Mueller *et al.* (2000)

a) Présentation des études

Titre : Le potentiel d'*Artemisia annua* L. comme remède de production locale contre le paludisme sous les tropiques : aspects agronomiques, chimiques et cliniques (43).

Cet article se compose de deux études pilotes qui ont été menées en République Démocratique du Congo avec l'accord des autorités régionales de santé et dont les dates ne sont pas indiquées par les auteurs. Elles ont permis de comparer deux méthodes de préparation (l'infusion et la décoction) avec du thé *Artemisia annua* ayant une dose correspondante aux recommandations de la pharmacopée chinoise. La première étude, qui s'est réalisée au Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro, était composée de 22 patients fébriles dont 16 présentant une parasitémie à *P. falciparum* et six à *P. malariae*. La deuxième étude, réalisée à l'hôpital de Nebobongo, était quant à elle composée de 48 patients infectés à *P. falciparum* et qui présentaient des symptômes subjectifs de paludisme (Tableau X).

✚ Les critères d'inclusion de ces études sont : présence de parasites du paludisme dans les frottis sanguins et symptômes subjectifs du paludisme (Tableau X). Dans l'essai de Lwiro, une température corporelle de 38°C était un critère supplémentaire d'inclusion.

✚ Les critères d'exclusion de ces études sont : grossesse, allaitement, patients âgés de moins de 11 ans et présence de maladies concomitantes graves.

Tableau X : Données cliniques de 48 patients atteints de paludisme avant et après traitement avec le thé Artemisia annua dans l'étude de Nebobongo (43).

	Before treatment	After treatment
Parasitaemia (<i>P. falciparum</i>)	48 (100%)	4 (8%)
Subjective symptoms	48 (100%)	11 (23%)
<i>Among these</i>		
Headache	37	3
Fever	27	1
Chills	10	0
Arthralgia	14	4
Vertigo	6	1
Others	27	8

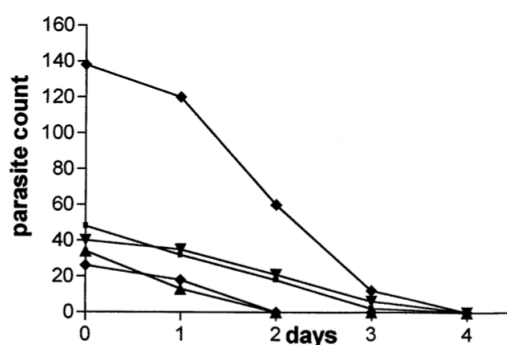
^a Eighteen men, 30 women; mean age 38 years, range 18–67 years.

Tableau XI : Résumé des caractéristiques de ces deux études.

	Étude de Lwiro	Étude de Nebobongo
Échantillonnage	22 patients	48 patients
Matériel	Feuilles séchées provenant d' <i>Artemisia annua</i> cv Artemis cultivées de décembre 1997 à juillet 1998. Teneur en artémisinine déterminée par HPLC.	
Méthode	<u>Méthode A</u> (infusion) pendant cinq jours : → un litre d'eau bouillante ajouté à 5 g de feuilles séchées. Après une brève agitation, le mélange a été laissé refroidir 15 minutes puis filtré.	<u>Méthode B</u> (décoction) pendant quatre jours : → 5 g de feuilles séchées ont été ajoutées à un litre d'eau, porté à ébullition, maintenu à ébullition pendant cinq minutes puis filtré.
Surveillance	Des frottis sanguins ont été réalisés chaque jour du traitement chez cinq patients.	Des frottis sanguins ont été réalisés pour tous les patients le premier et le dernier jour de traitement.
	Interrogatoire quotidien des patients pour connaître l'évolution de leurs symptômes. Étroitement surveillés pendant la durée de l'étude. Un traitement antipaludique conventionnel été à disposition au cas où l'état des patients se détérioreraient. Tous les patients traités devaient rester soit à l'hôpital soit à leur domicile à proximité de l'hôpital.	

Tableau XII : Résumé des résultats obtenus dans l'étude de Lwiro et Nebobongo.

	Résultats
Étude de Lwiro	✦ Le nombre de parasites a rapidement chuté à 0 (Figure 14). ✦ Sur les cinq patients ayant un frottis sanguin quotidien, au dernier jour du traitement tous apparaissaient exempts de trophozoïtes et de symptômes. ✦ Sur les 17 autres patients : 15 ont signalé une disparition complète des symptômes au cours du traitement. → Taux de guérison estimé : 100%.
Étude de Nebobongo	✦ Les frottis sanguins réalisés à J₄ ont montré une disparition des parasites pour 44 patients, soit 92% (Tableau X). ✦ 37 patients ont été asymptomatiques à J₄ (77%). ✦ 11 patients (23%) avaient encore des plaintes qui pouvaient être liées ou non au paludisme et deux de ces 11 patients présentaient encore un frottis sanguin positif au paludisme. ✦ 12 patients (25%) se sont plaints de nausées pendant le traitement et qui ont disparu à J₄. ✦ Un patient a signalé des vomissements au cours du traitement. ✦ Seuls trois patients se sont plaints dans la semaine qui a suivi le traitement de nouveaux symptômes pouvant être liés au paludisme cependant leurs frottis sanguins se sont révélés négatifs. → Taux de guérison estimé : 92%.



*Figure 14 : Dénombrement des parasites dans les frottis sanguins épais de cinq patients atteints de paludisme sous traitement avec du thé *A. annua* dans l'étude de Lwiro (43).*

Aucun groupe témoin n'a été inclus dans ces deux études. Cependant à partir des dossiers présents à l'hôpital de Nebobongo, les auteurs ont identifié 12 patients qui avaient été diagnostiqués pour le paludisme (frottis sanguins positifs et présence de symptômes subjectifs) et qui n'avaient pas reçu de traitement antipaludique pour diverses raisons telles que le refus de traitement. Le second frottis sanguin réalisé une semaine après le premier a montré que trois de ces patients (25%) avaient été diagnostiqués comme exempts de parasitémie, ce qui peut servir d'estimation approximative pour la réduction spontanée de la parasitémie chez les patients non traités dans une population semi-immune examinée.

Conclusion avancée par les auteurs : Il semble plausible que les préparations de thé à base d'*Artemisia annua* puissent montrer une efficacité clinique contre le paludisme comme le suggère la pharmacopée chinoise et nos observations cliniques.

b) *Biais et limites*

✚ Le diagnostic du paludisme

Les critères d'inclusion des patients énoncés par les auteurs sont peu suffisants afin d'affirmer une réelle atteinte du paludisme. En effet, les signes cliniques étant trop subjectifs, il y a un risque d'inclure des patients sans accès palustre et semi immunisés.

Concernant la parasitémie, les frottis sanguins ont été examinés à la suite d'une coloration de Fields et les trophozoïtes ont été comptés dans environ 0,38 µl. D'après la figure 15, la parasitémie à J₀ la plus haute est de 140 trophozoïtes/0,38 µl soit 368,5 trophozoïtes/µl. Étant très loin du seuil fixé par l'OMS de 2000 trophozoïtes/µl et les critères cliniques d'inclusion étant subjectifs, des doutes sont à émettre quant au diagnostic de paludisme de ces patients (Annexe 1 et 2). De plus, d'après les dossiers présents à l'hôpital de Nebobongo, trois patients n'ayant pas reçu de traitement ont été exempts de parasites une semaine après le diagnostic de paludisme. Cela renforce l'idée que la population incluse dans ces deux études est une population semi immunisée qui, avec ou sans traitement, pourra connaître une résolution spontanée de la parasitémie.

✚ La surveillance et le suivi

La durée de traitement de ces études diffère d'un jour sans précision par les auteurs. Seule conclusion avancée par les auteurs, concernant cette différence, est que comme pour la monothérapie à l'artémisinine, une cure de cinq jours doit être le minimum. De plus, le suivi des patients n'est pas suffisant. En effet, aucun suivi n'a été réalisé chez ces patients après leur quatrième ou cinquième jour de traitement, ne permettant pas de savoir si une recrudescence a pu apparaître par la suite.

c) *Synthèse et analyse critique*

Dans l'étude de Lwiro, les auteurs concluent à une guérison de 100% après cinq jours de traitement de thé d'*Artemisia annua*, cependant les critères définissant cette guérison sont biaisés. La guérison parasitologique ne peut être confirmée du fait des faibles taux de trophozoïtes initiaux par rapport à ceux recommandés par l'OMS et d'un échantillon de faible puissance : seulement cinq patients sont suivis quotidiennement pour leur parasitémie. Ce résultat se repose principalement sur une guérison clinique signalée par les patients eux-mêmes de leur absence de symptômes sans qu'aucun examen ne soit réalisé par des agents hospitaliers pour le confirmer. Même constat dans l'étude de Nebobongo, les critères définissant une guérison de 92% sont biaisés du fait de l'absence de suivi parasitologique quotidien des 44 patients inclus dans cette étude durant et après le traitement.

Les critères de jugement adoptés par les auteurs dans ces études sont très éloignés de ceux recommandés par l'OMS (54). L'efficacité des traitements à base de thé d'*A. annua* ne peut être prouvée dans ces études du fait d'un échantillon de faible puissance, de critères cliniques souvent trop subjectifs et de doute quant au diagnostic du paludisme chez des patients potentiellement semi immunisés. Les auteurs ne peuvent affirmer le succès de ce traitement sans avoir réalisé un suivi parasitologique de chaque patient durant toute la période du traitement mais aussi au-delà de celui-ci, excluant toutes recrudescences possibles.

2. Étude de Gebeyaw *et al.* (2010)

a) Présentation de l'étude

Titre : Utilisation de la plante *Artemisia annua* comme une herbe antipaludique naturelle dans la ville d'Arbaminch (55).

L'objectif de cette étude qualitative est d'évaluer l'étendue de l'utilisation et la perception de son efficacité ainsi que les effets néfastes de la plante *A. annua* en tant qu'herbe antipaludique naturelle dans la ville d'Arbaminch en Éthiopie.

Conception de l'étude : Cette étude a été menée à l'aide de quatre groupes de discussion impliquant 29 participants. Deux de ces groupes étaient supervisés par des herboristes et les deux autres par des agents de santé. Ces informateurs clefs, herboristes et agents de santé, ont été sélectionnés en fonction de leur connaissance sur la plante *A. annua*. Leur travail était de collecter, par des entretiens approfondis avec les participants, toutes les données impliquant la prise par voie orale de *A. annua* dans le traitement du paludisme.

Matériels et méthode : Tous les participants ont reçu sept sachets contenant des feuilles séchées de la plante broyée en poudre. Chaque jour un sachet devait être utilisé par les participants en suivant ce protocole : un sachet dans de l'eau bouillante à faire infuser pendant 15 minutes puis filtrer avec un tamis. Ce thé devait être divisé en quatre portions égales et devait être pris quatre fois par jour avant chaque repas pendant sept jours. Les informateurs clefs ont déclaré que la technique de préparation et les modalités de traitement avaient été apprises dans le cadre d'un programme de formation dispensé par une ONG.

Résultats obtenus par les informateurs, à la suite de discussions avec les patients dans les différents groupes :

- 100% des répondants ont déclaré que la préparation ressemblait à une tisane et que la voie d'administration était orale.
- 98,6% ont dit avoir consommé un litre par jour.
- 83,6% ont dit avoir réparti le traitement en quatre fois par jour.
- 97,3% ont dit avoir suivi le traitement pendant sept jours.
- Tous ont pris ces tisanes alors qu'ils souffraient d'un paludisme prouvé par frottis sanguin et tous ont été guéris.
- Soulagement des symptômes dès le deuxième jour.
- Résolution des symptômes et une élimination des parasites très rapide.

De plus, une enquête transversale auprès des ménages a été menée en janvier 2006 pour compléter ces résultats. Le taux de réponse de cette enquête a été de 99,3%.

Dans celle-ci, impliquant 73 participants volontaires, les résultats obtenus après la prise de tisane *A. annua* avec les mêmes modalités de prise que l'étude précédente sont :

- 67 participants (91,8%) ont déclaré une guérison.
- Deux participants (2,7%) ont signalé une amélioration.
- Quatre participants (5,5%) ont signalé une récurrence.
- Aucun n'a signalé d'échec complet du traitement.

Les effets indésirables liés à ce traitement ont été également étudiés et les résultats obtenus sont :

- 70 participants (95,9%) ont déclaré aucun effet indésirable.
- Trois participants (4,1%) ont déclaré des effets indésirables légers notamment le goût amer de la tisane.

Discussion des auteurs : L'étude qualitative a permis d'attester que le niveau de perception et l'utilisation d'*Artemisia annua* comme herbe antipaludique dans la ville d'Arbaminch sont élevés. Elle a aussi montré que la préparation de l'herbe dans le traitement du paludisme et les modes de thérapie sont bien communiqués et compris par les sujets de l'étude.

Les discussions de groupes et les entretiens approfondis ont révélé que le résultat du traitement du paludisme à l'aide de ces tisanes est efficace. Ces résultats sont corroborés par l'enquête auprès des ménages ayant obtenu un taux de guérison de 91,8%. La résolution des symptômes et de la parasitémie dans les deux jours suivant le début de ce traitement sont dues à la rapidité d'absorption de l'artémisinine et de l'obtention d'une concentration plasmatique maximale 30 minutes après la prise du traitement. De plus, 95,9% des utilisateurs de ces tisanes déclarent n'avoir ressenti aucun effet indésirable. D'autres avantages supplémentaires ont été notés lors des entretiens des différents groupes de discussion notamment l'amélioration de l'appétit et un bon sommeil.

Conclusion avancée par les auteurs : L'efficacité de l'herbe dans le traitement du paludisme, sa simplicité de prise, son faible coût, l'absence d'effets indésirables majeurs, ainsi que d'autres avantages liés au traitement ont créé un niveau élevé de sensibilisation et d'utilisation de l'herbe.

b) Biais et limites

✚ La conception de l'étude

L'enquête transversale a débuté en janvier 2006 en complément de l'étude qualitative réalisée auparavant. Cependant, la date du début de cette première étude n'est pas indiquée tout comme la fin de ces deux études présentées dans cet article. De plus, celles-ci se reposent principalement sur la perception subjective des participants quant à la prise de ces tisanes. La collecte des données réalisée dans l'étude qualitative se concentre principalement sur les entretiens exécutés par les informateurs clefs de chaque groupe de discussion qui recueillent les informations déclarées par les participants. Néanmoins, aucune information ne sont données sur la manière dont se déroulent ces entretiens : durée, questionnaire d'évaluation, questions ouvertes/fermées, etc. La collecte de ces données semble alors très subjective du fait de l'absence de méthodologie de ces entretiens entraînant un biais de mémoire non négligeable.

La collecte de données réalisée dans l'étude transversale se base quant à elle sur un questionnaire testé au préalable par les auteurs.

✚ Le choix des participants

Dans ces études très peu d'informations sont données quant à l'inclusion et l'exclusion de ces patients : en effet, pas de données concernant l'âge, le poids, le sexe et les symptômes cliniques des participants.

Le seul critère indiqué : tous les participants sont atteints de paludisme validé par frottis sanguin mais aucun examen clinique et parasitologique ne sont mentionnés par les auteurs pour le confirmer. D'autre part, les patients auraient pu avoir recours à la prise de médicaments antipaludiques avant ou pendant cette étude du fait de l'absence de celui-ci dans les critères d'exclusion pouvant compromettre les résultats obtenus.

✚ Le matériel et la méthode

Concernant le matériel utilisé, c'est-à-dire les sept sachets de poudre reçus par les patients, la provenance de ces feuilles n'est pas indiquée. Elles peuvent provenir de fermes agricoles proches de la ville d'Arbaminch ou auprès de fournisseurs plus lointains. L'absence de ces informations laisse quelques interrogations quant à la qualité du produit : quantité d'artémisinine présente, stockage des feuilles, pesticides, *etc.*

Concernant la modalité de prise, les patients ont eu une formation dispensée par une ONG afin de préparer eux-mêmes la tisane durant sept jours. Cependant, les auteurs ne donnent pas d'informations supplémentaires quant à la prise de ces tisanes : à domicile, à l'hôpital, sous surveillance, *etc.* Il est peu probable que la totalité des patients ont pris leur traitement de façon rigoureuse durant toute la période indiquée ce qui peut biaiser les résultats obtenus.

De plus, bien que 100% des répondants citent que la préparation ressemblait à une tisane et que la voie d'administration était orale, le reste des déclarations concernant la dose journalière, la fréquence et la durée du traitement n'est pas de 100%. Cela confirme que 100% des patients n'ont pas suivi le traitement de façon rigoureuse, leurs déclarations ne peuvent donc pas être retenues et incluses dans la collecte de données.

✚ Suivi et surveillance

Aucun suivi et aucune surveillance durant le traitement n'ont été réalisés. Il n'est pas rare que certains cas de recrudescence, constatés dans d'autres études, apparaissent dans les 14 jours suivant la prise du traitement. Du fait de l'absence de suivi, cette recrudescence possible n'est pas prise en compte. L'enquête auprès des ménages qui a montré un taux de guérison de 91,8% ne peut être confirmée du fait de la non-réalisation de ce suivi des patients jusqu'à J₁₄.

L'absence d'examens cliniques, physiques et hématologiques durant tout le traitement met en doute l'affirmation des auteurs que les patients ont obtenu une résolution des symptômes et une élimination des parasites très rapidement et cela dès le deuxième jour de traitement.

c) Synthèse et analyse critique

Tous les résultats obtenus ne peuvent être fiables au vu de la subjectivité de l'étude et le manque important de critères scientifiques et médicaux. Les auteurs n'ont pas suivi les recommandations de l'OMS concernant l'inclusion, l'exclusion des patients et le système de classification des réponses au traitement (Annexe 1, 2 et 3). L'inexistence d'examens médicaux ainsi que le suivi des patients durant toute cette étude ne peuvent permettre de confirmer la conclusion avancée par les auteurs concernant l'efficacité et l'absence d'effets indésirables majeurs de ces tisanes à base d'*Artemisia annua*.

3. Étude de Ogwang *et al.* (2012)

a) Présentation de l'étude

Titre : L'infusion *Artemisia annua* L. consommée une fois par semaine réduit le risque d'épisodes multiples de paludisme : un essai randomisé dans une communauté ougandaise (56).

En Ouganda, *Artemisia annua* présentée sous forme de tisane, est utilisée par certaines communautés pour la prévention du paludisme et d'autres maladies telles que l'infection VIH/SIDA. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet protecteur des tisanes *Artemisia annua* utilisées contre le paludisme et de prédire son mode d'action dans la prophylaxie revendiquée. Cette étude a été menée dans la ferme florale de Wagagai en Ouganda et s'étend d'avril à décembre 2009 (M0 à M9) au lieu des 12 mois initialement prévus. Cependant comme aucun cas de paludisme n'est survenu entre le 8^{ème} et 9^{ème} mois dans le groupe *Artemisia*, les auteurs n'ont pas jugé nécessaire de continuer le suivi de ces patients jusqu'au 12^{ème} mois. Au moment où l'étude a été lancée, parmi les ouvriers agricoles, le paludisme représentait entre 16 et 20% des consultations externes.

✦ Les critères d'inclusion de cette étude sont : antécédents d'au moins deux épisodes de paludisme par an ; examen physique réussi ; fonctions hépatiques, rénales et hématologiques normales ; coloration au Giemsa et frottis sanguin négatif.

✦ Les critères d'exclusion de cette étude sont : utilisation de médicaments ou plantes/herbes antipaludiques avant et pendant la période d'étude et femmes enceintes.

Ces volontaires qui, remplissent les critères d'éligibilité, ont été randomisés selon le rapport de 1 : 1 dans les groupes « Tisane *Artemisia annua* » ou « Placebo », précédemment attribués, respectivement comme impair et pair. Les patients ont choisi dans une boîte un papier plié avec un chiffre qui détermine un des deux groupes (Figure 15).

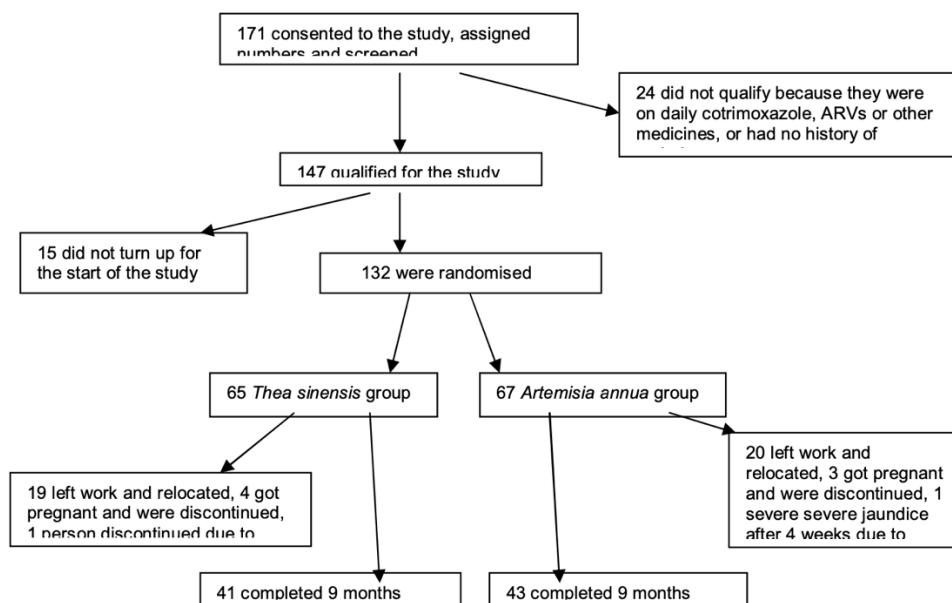


Figure 15 : Tableau de recrutement, d'inscription et de suivi des participants de l'étude (56).

Tableau XIII : Résumé des différences entre les deux bras d'études.

	Groupe Tisane	Groupe Placebo
Matériels	<u>M0 à M8</u> : Tisanes à base de poudre de feuilles <i>Artemisia annua</i> provenant du jardin de la ferme florale Wagagai les huit premiers mois. <u>M9</u> : Tisanes à base de feuilles <i>A. annua</i> provenant d'une source commerciale.	<u>M0 à M9</u> : Tisanes de poudre de <i>Thea sinensis</i> .
Méthodes	• Teneur en artemisinine déterminée en avril, juin et décembre 2009. • Infusion préparée en ajoutant de l'eau bouillante à 5 g de poudre de feuilles <i>A. annua</i> sèches, agitée et laissée infuser pendant 30 minutes, tamisée et servi immédiatement. Du miel a été ajouté pour améliorer le goût de cette tisane. • Administration de 250 ml de cette infusion tous les mercredis sous contrôle direct par l'infirmière de l'étude.	• Volume équivalent (250 ml) d'infusion une fois par semaine, de <i>T. sinensis</i>. • Le même volume de miel a été ajouté dans l'infusion que dans l'autre groupe.
Échantillon	A M0 : 67 participants A M9 : 43 participants	A M0 : 65 participants A M9 : 41 participants
Surveillance	- De la survenue d'épisodes de paludisme : présence de signes et symptômes cliniques (fièvre, maux de tête, douleurs articulaires) et frottis sanguin positif. - Des effets indésirables graves : éruption cutanée, jaunisse, modifications de la tension artérielle et de la fréquence cardiaque. Ils ont été surveillés pendant 12 mois par le biais d'autoévaluation hebdomadaire par les participants et examen clinique mensuel. - D'une grossesse : toutes participantes avec un test de grossesse positive pendant l'étude ont été exclues.	

Tableau XIV : Résultats obtenus par les auteurs en fin d'étude.

	Résultats
Effet du thé <i>A. annua</i> sur le paludisme clinique et subclinique	Au total dans ces deux groupes, 124 épisodes de paludisme ont été enregistrés sur une période de neuf mois dont 88,8% dû à <i>Plasmodium falciparum</i> (Tableau XV).
Taux d'incidence du paludisme	Durée moyenne de suivi pour le taux d'incidence du paludisme était de : - $7,4 \pm 2,4$ mois pour le groupe tisane. - $6,9 \pm 3,0$ mois pour le groupe placebos.
Efficacité de la protection du thé <i>A. annua</i>	L'effet protecteur contre le paludisme de la perfusion <i>A. annua</i> a montré une tendance à la hausse du taux d'infection mais sans aucun cas de paludisme clinique survenu dans le groupe tisane au 8 ^{ème} mois de la prophylaxie (Figure 16).
Effet des moustiquaires : réduction du taux d'incidence du paludisme	Groupe tisane sans moustiquaire : 37,5%. Groupe placebo sans moustiquaire : 38,5%. Groupe tisane + moustiquaire : 26,7%.
Effets indésirables recensés	Goût amer de la tisane <i>Artemisia annua</i> . Ictère sévère chez un patient causé par l'hépatite B exclu à la 4 ^{ème} semaine et réintégré à la 6 ^{ème} .

Tableau XV : Répartition du paludisme clinique entre les groupes « tisane » et « placebo » sur une période de 9 mois (56).

Episodes	Artemisia %(n)	95%CI	Placebo %(n)	95%CI	Z	P
0	53.7(36)	42.1,65.9	35(23)	23.4,46.6	2.2	0.028*
1	28.4(19)	17.2,38.8	25%(16)	14.5,35.5	0.4	0.696
2	13.4(9)	5.0,21.0	28(18)	17.1,38.9	-2.14	0.032*
3	3.0(2)	-1.1,7.1	11(7)	3.4,18.6	-1.81	0.071
4	1.5(1)	-1.3,5.3	1.5(1)	-1.4,5.5	0.00	1.000
>1	17.9(12)	8.8,27.2	40(26)	28.1,51.9	-2.79	0.005*

**Artemisia annua* infusion had a significant protective effect against malaria especially in reducing multiple episodes of malaria.

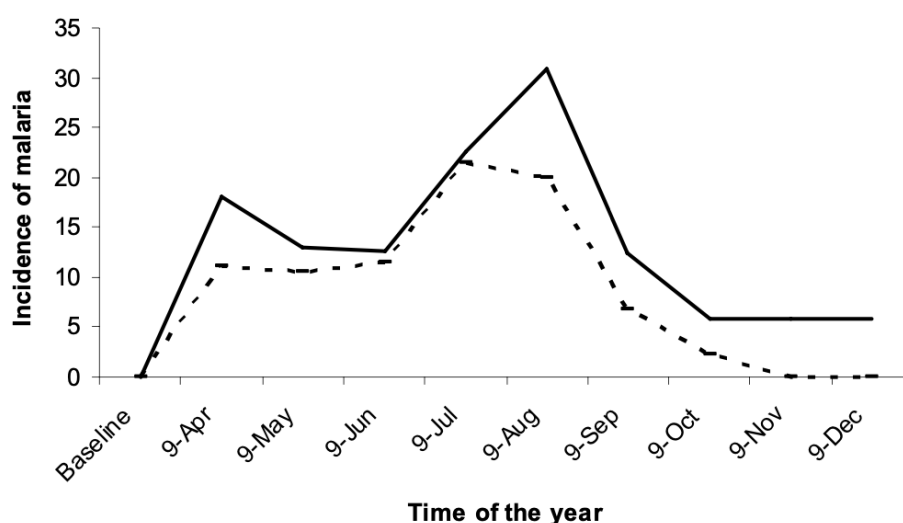


Figure 16 : Incidence mensuelle du paludisme dans les groupes Artemisia (ligne pointillée) et placebo (ligne continue) (56).

Conclusion avancée par les auteurs : L'infusion d'*Artemisia annua* consommée une fois par semaine sous forme de tisane est efficace pour prévenir les épisodes multiples de paludisme et son mode d'action peut impliquer la stimulation de la production de globules blancs, en particulier les monocytes.

b) Biais et limites

✚ La méthode

Malgré une bonne méthodologie de la part des auteurs, il existe dans la conception de cette étude des biais. Tout d'abord, les patients devaient présenter un frottis sanguin négatif afin d'y être inclus. Néanmoins, en cas de faible parasitémie, ce frottis sanguin peut aussi être négatif, l'association avec une goutte épaisse aurait dû être nécessaire afin de supprimer le risque de faux-négatifs. Concernant l'inclusion, les patients devaient présenter au moins deux épisodes de paludisme par an, ce qui implique que ces patients étaient pour la plupart semi-immunisés. Pour cette population vivant dans une zone endémique et ayant un degré significatif d'immunité, le paludisme est rarement une maladie potentiellement mortelle.

Ces résultats seraient certainement différents pour les jeunes enfants et les personnes originaires de zone où le paludisme n'est pas endémique et seraient difficilement applicables à ces groupes pour lesquels le paludisme peut être mortel. De plus, l'inclusion de ces patients s'appuyait sur leur antécédents médicaux et leur utilisation antérieure d'antipaludique impliquant un biais de rappel.

La randomisation a été réalisée selon un rapport 1 : 1 assurant une répartition équilibrée pour les deux bras d'études sauf pour l'utilisation des moustiquaires avec 18,5% dans le groupe placebo et 35,8% pour le groupe tisane. Malgré cette randomisation non équilibrée, les auteurs confirment une différence significative du taux d'incidence du paludisme entre le groupe tisane et le groupe placebo après ajustement de l'utilisation des moustiquaires.

✚ Le matériel

Le principal effet indésirable recensé par les auteurs au cours de cette étude est le goût amer des tisanes *Artemisia annua*. Cependant, afin de masquer ce goût, du miel a été ajouté aux deux tisanes durant l'étude. L'aveugle est ainsi difficilement réalisable du fait du recensement de cet effet indésirable malgré le miel ajouté dans les tisanes *A. annua* comparé à celles de *Thea sinensis* où aucun effet de ce genre n'a été recensé.

✚ L'effet protecteur

Durant le suivi des patients, des prises de sang ont été réalisées tout au long de leur traitement afin de suivre l'évolution des cellules sanguines dans ces deux groupes à M0, M3, M6 et M12. Les résultats ont permis de montrer que les patients du groupe *Artemisia* ont eu des niveaux plus élevés de globules blancs, notamment les monocytes, que ceux du groupe placebo. Par ailleurs, il a été démontré dans des études antérieures que les monocytes phagocytent les érythrocytes humains infectés par les parasites jeunes et matures de *Plasmodium falciparum* avec un taux de 7,5 érythrocytes infectés contre 0,8 érythrocytes non infectés (57). Dans cette étude, l'augmentation de ces cellules n'a pas été que transitoire car le niveau est resté significativement élevé durant toute la prophylaxie et aucun cas de paludisme n'a été noté à partir du huitième mois.

c) Synthèse et analyse critique

D'après ces résultats, les auteurs ont conclu que la prise de ces tisanes consommée une fois par semaine est efficace pour prévenir l'apparition d'épisodes de paludisme. Cependant, des questions sont à se poser quant à la véritable action antipaludique de ces tisanes d'*A. annua*. L'effet prophylactique, décrit dans cet essai, peut s'expliquer principalement par l'effet immunomodulateur et antipaludéen des flavonoïdes contenu aussi dans les tisanes. En effet, il est peu probable que cet effet soit dû à l'artémisinine seule, du fait de son élimination rapide dans les 24 heures suivant son administration. Ainsi son utilisation dans la prophylaxie du paludisme ne peut être recommandée et ne peut permettre une protection des populations à l'égard de ce parasite, mais pourrait au contraire engendrer une augmentation de sa résistance face aux thérapies conventionnelles basées sur cette même molécule.

4. Étude de Chougouo Kengne *et al.* (2012)

a) Présentation de l'étude

Titre : Étude comparative de l'efficacité *in vivo* de l'artésunate seul ou en association avec l'amodiaquine et de la tisane d'*Artemisia annua* cultivée à l'ouest du Cameroun dans le district de santé de Bangangt (58).

L'objectif de cette étude est de comparer l'efficacité de l'artésunate en monothérapie et en association avec l'amodiaquine sur le parasite *Plasmodium falciparum* en même temps que l'étude de l'efficacité thérapeutique d'*A. annua* comme plante antipaludique.

✦ Les critères d'inclusion de cette étude sont : adultes et enfants atteints de paludisme à *P. falciparum* sans complication, une parasitémie située entre 1000 et 15 000 parasites/ μ l de sang, une fièvre $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ou des antécédents de fièvre au cours des 48 dernières heures avec parasitémie.

✦ Le critère d'exclusion de cette étude est : présence de symptômes cliniques correspondant à un paludisme grave.

Tableau XVI : Résumé des différences entre les différents bras d'études.

	Groupe Artésunate	Groupe Artésunate + Amodiaquine	Groupe Tisane	
			5 jours	7 jours
Méthodes	Essai clinique randomisé. Patients de 0 à 80 ans (la plupart des enfants). Attribution au hasard des traitement per os.			
Échantillon	27 personnes	21 personnes	7 personnes	18 patients ont prolongé le traitement
Durée de l'essai	5 jours	3 jours	5 jours	7 jours
Posologies	Pour les <u>adultes</u> : - J ₁ : 200 mg/jr - J ₂ -J ₅ : 100 mg/jr Pour les <u>enfants</u> : - J ₁ : 2 mg/kg/jr - J ₂ -J ₅ : 1 mg/kg/jr	Moins de 10 kg : 25/76,5 mg/jr Entre 10 et 20 kg : 50/153 mg/jr Entre 20 et 40 kg : 100/306 mg/jr Plus de 40 kg : 200/612 mg/jr	Infusion de 5 g feuilles séchées <i>A. annua</i> dans un litre d'eau bouillante durant 15 min. Pour les <u>adultes</u> : → 1 litre par jour Pour les <u>enfants</u> : → 166 ml pour 10 kg.	
Essai	Suivi des patients à J ₁ , J ₂ , J ₃ , J ₄ , J ₇ , J ₁₄ . Suivi complet impossible chez 4 patients (5,4%). 13 patients montrant des symptômes de paludisme grave ont été exclus et orientés vers les services de santé appropriés.			

Les auteurs ont évalué la réponse clinique selon les prescriptions de l'OMS (Annexe 3) :

- Échec thérapeutique précoce (ETP) : si à J₃, présence d'une fièvre persistante et d'une parasitémie de densité supérieure à 25% de la parasitémie à J₀.
- Échec thérapeutique tardif (ETT) : si disparition de la fièvre à J₃ et densité parasitaire à 25% de J₀ mais présence de fièvre avec parasitémie de J₄ à J₁₄.
- Succès thérapeutique (ST) : si, à partir de J₃, pas de fièvre et pas de parasitémie (guérison précoce) ou si, sujets avec ou sans fièvre à J₃ avec une densité parasitaire inférieure à 25% de J₀ et dont la parasitémie a disparu ensuite (guérison tardive) (58).

Tableau XVII : Résultats obtenus par les auteurs dans les quatre groupes en fin d'étude.

	ETP	ETT	ST	Total
Groupe Artésunate	2	3	21	26
	19,9%		80,1%	100%
Groupe Artésunate + Amodiaquine	0	3	18	21
	14,30%		85,7%	100%
Groupe Tisane - 5 jours	0	2	5	7
	28,6%		71,4%	100%
Groupe Tisane - 7 jours	0		18	18
	0%		100%	100%

Conclusion avancée par les auteurs de cette étude : Les quatre protocoles expérimentés ont donné des résultats satisfaisants. Les tisanes d'*Artemisia annua* sont autant efficaces lorsqu'elles sont prises longtemps c'est-à-dire pendant au moins sept jours. Les auteurs concluent que les tisanes d'*A. annua*, tout comme l'artésunate, sont des bons traitements contre le paludisme.

b) Biais et limites

✚ La conception de l'étude

L'attribution des traitements aux patients s'est faite de façon aléatoire provoquant l'existence d'un biais lié à l'absence du double aveugle. En effet, malgré la répartition au hasard, le patient et le médecin pouvaient connaître la répartition de chacun du fait du manque de placebos, de la différence de galénique (comprimés et feuilles séchées) et de la durée du traitement (cinq à sept jours pour le groupe tisane). L'insu est important dans une étude clinique pour augmenter sa fiabilité ainsi que celle du résultat.

D'autres informations sont à manquer :

- La quantité d'artémisinine contenue dans les tisanes n'est pas indiquée,
- Les modalités de prise du traitement ne sont pas détaillées : à domicile, à l'hôpital, sous surveillance, etc.

✦ Le nombre de patients

Dans cette étude, initialement 73 patients atteints de paludisme ont été intégrés et réparti en quatre groupes. Dans le groupe artésunate, 27 patients ont été soumis à ce protocole et l'on retrouve 26 patients à J₁₄. Aucune information n'a été donnée sur ce patient non comptabilisé. D'autre part, durant l'étude 13 patients ont signalé des symptômes cliniques correspondant à un paludisme grave, ce qui a provoqué leur exclusion et ils ont été orientés vers les services de soins appropriés pour une prise en charge adaptée. Malgré l'exclusion de ces 13 patients, les auteurs comptabilisaient tout de même à la fin de l'étude 72 patients. Cette incohérence laisse place à deux options : un nombre initial de 86 patients ou l'inclusion de 13 nouveaux patients au cours de l'étude sans aucune information donnée dans le texte. D'autre part, le suivi n'a pas pu être réalisé chez quatre patients, dont on ne connaît pas le groupe auxquels ils appartiennent. N'ayant pas de précision supplémentaire, on peut supposer que ces quatre patients ont été inclus dans les résultats malgré ce manque de suivi.

Une autre incohérence dans l'échantillonnage est à relever. Les auteurs précisent que « 18 ont prolongé leur traitement à la tisane de *A. annua* à 7 jours ». Aucune raison n'est donnée quant à cette prolongation, laissant encore une fois imaginer différentes possibilités envisageables :

- Seulement trois groupes initialement prévus mais 18 patients ont prolongé leur traitement provoquant l'ajout d'un quatrième groupe,
- Mauvaise réponse clinique à J₅ du groupe tisane 5 jours obligeant 18 patients à continuer le traitement deux jours de plus,
- 18 patients n'ont pas utilisé la totalité des feuilles séchées initialement données et ont continué le traitement deux jours de plus.

✦ Les résultats

Dans le tableau XVIII, la moyenne des températures recensées à J₀ pour le groupe tisane 7 jours n'est pas en adéquation avec les températures indiquées dans la figure 17. En effet, dans ce tableau la moyenne de la température du groupe est de 37,72°C alors que sur la figure 17, la température moyenne se situe entre 37,4 et 37,42°C. Incohérence similaire pour la parasitémie moyenne pour le groupe tisane 7 jours, à J₀ la moyenne est de 3475 trophozoïtes/μL dans le tableau XVI alors que sur la figure 18 à J₀ la parasitémie moyenne est d'environ 2750 trophozoïtes/μL.

Tableau XVIII : Âge et poids moyens des patients ainsi que la moyenne des deux critères majoritaires d'inclusion de cette étude à J₀ (58).

	AS	AS+AQ	TIS 5J	TIS 7J	TOTAL
NBRE DE PATIENTS	27	21	7	18	73
AGE MOYEN (ans)	14,18 ± 15,13	24,52 ± 17,71	28,85 ± 23,16	19,13 ± 13,81	21,67 ± 17,47
POIDS MOYEN EN KG	33,75±19,35	49,05±17,84	50,14±17,44	48,81±19,39	46,43±18,50
T° MOYENNE (°C)	37,93 ± 0,69 (36,5-40)	37,98 ± 0,82. (37,2-40,5)	37,71 ± 0,36 (37,3 - 38,3)	37,72 ± 0,71 (37,3 - 38,4)	37,83 ± 0,64 (37,02-39,3)
PARASITEMIE MOYENNE (par μl)	2930,77 ± 2221,79	2569,41 ± 2501,66	1051,42 ± 676,34	3475 ± 4175,35	2506 ± 2393,78

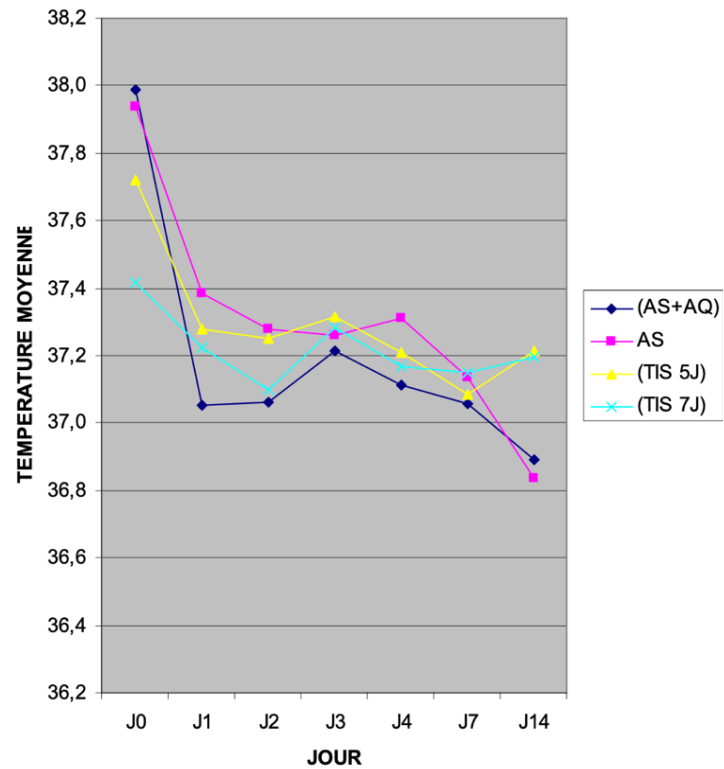


Figure 17 : Évolution de la température moyenne entre les quatre bras d'étude (58).

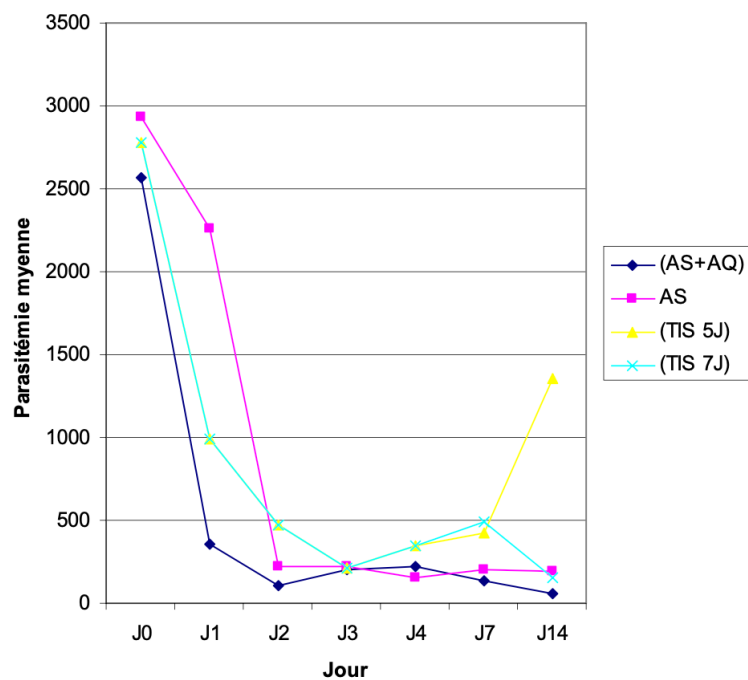


Figure 18 : Évolution de la parasitémie moyenne entre les quatre bras d'étude (58).

Outre certaines incohérences de résultats, l'arrêt de suivi à J₁₄ des patients n'est pas suffisant pour prendre en compte les cas de recrudescence possible.

c) Synthèse et analyse critique

La conception de l'étude par les auteurs n'est pas suffisamment robuste afin de confirmer les résultats obtenus en fin d'étude. En effet, il existe de nombreuses incohérences dans les examens cliniques et biologiques réalisés durant le suivi des patients. De plus, l'obtention d'un succès thérapeutique de 100% pour le groupe tisane 7 jours a rarement été atteint même avec les CTA les plus efficaces. Pour conclure, cette étude randomisée décrit de façon superficielle la prise en charge des patients ainsi que le suivi des différents traitements étudiés ne pouvant affirmer que les tisanes d'*Artemisia annua* sont un traitement efficace contre le paludisme.

5. Étude de Zime-Diawara *et al.* (2015)

a) Présentation de l'étude

Titre : Étude de l'efficacité et de la tolérance d'une tisane à base d'*Artemisia annua* L. (*Asteraceae*) cultivée au Bénin pour la prise en charge du paludisme simple (59).

L'objectif de cet article est de prouver que les tisanes à base d'*Artemisia annua* ont une capacité d'action sur *Plasmodium falciparum* avec un taux d'efficacité suffisant pour valider ce traitement par l'OMS.

✚ Les critères d'inclusion de cette étude sont : adultes et enfants âgés de 10 ans et plus, pesant 20 kg et plus, possédant une goutte épaisse positive avec une parasitémie ≥ 1000 parasites/ μ l et une température $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$. Les patients devaient être capables d'avaler le traitement *per os* et ne devaient pas avoir d'autres maladies concomitantes.

✚ Les critères d'exclusion de cette étude sont : présence de signes d'atteinte grave de l'état général (incapacité de boire ou de manger, plus de deux vomissements par jour et datant de moins de 24 heures, *etc.*), utilisation d'un autre traitement antipaludique dans les 20 jours précédents ainsi que les patients ayant un bilan biologique perturbé.

Dans cette étude 130 patients ont eu une goutte épaisse positive ≥ 1000 parasites/ μ l et ont été inclus dans l'étude. Pendant sept jours, les 130 patients ont bu un litre de tisane à base de feuilles d'*A. annua*.

Ces tisanes ont été préparées chaque jour par l'équipe médicale avec la méthodologie suivante : un litre d'eau bouillante versé sur 12 g de feuilles dans un récipient en aluminium, infusion de 15 min puis filtration de la tisane. Tous les patients devaient boire quatre tisanes de 250 ml (ou 125 ml pour les 10-13 ans) en 24 heures sans les réchauffer. Au total, chaque patient de plus de 13 ans a reçu une quantité totale d'environ 36 mg d'artémisinine et 18 mg pour les 10-13 ans en 24 heures. De J_0 à J_{28} , ces patients ont eu un suivi clinique et biologique (Tableau XIX) et un examen physique complet de J_0 à J_3 à l'hôpital puis en ambulatoire à J_{14} , J_{21} et J_{28} . Au total 108 patients ont réalisé et suivi le traitement en intégralité et ont honoré rigoureusement les rendez-vous définis.

Tableau XIX : Résumé du suivi des patients au cours de l'essai clinique portant sur l'efficacité et la tolérance de la tisane et des gélules de Artemisia annua cultivé au Bénin chez les patients atteints de paludisme simple (59).

Jour	0	1	2	3	4	5	6	7	8	14	21	28
Histoire médicale	X							X		X	X	X
Examens cliniques*	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
Température*, pouls et TA	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
Goutte épaisse*	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
NFS+ Plaquettes, ASAT-ALAT, Glycémie, Créatinémie	X	X							X			X
Papier filtre pour analyse PCR	X							(X)		(X)	(X)	(X)

* = jusqu'à disparition de la parasitémie

(X)= en cas de recrudescence parasitaire

D'après les résultats obtenus, le traitement par la tisane d'*Artemisia annua* a montré une nette régression des symptômes 24 heures après la première prise. Au départ tous les patients étaient fébriles, 12 heures après la première prise une baisse significative de la température a été notée (Figure 19) et la clairance thermique est obtenue à 36 heures avec 90,1% de malades apyrétiques.

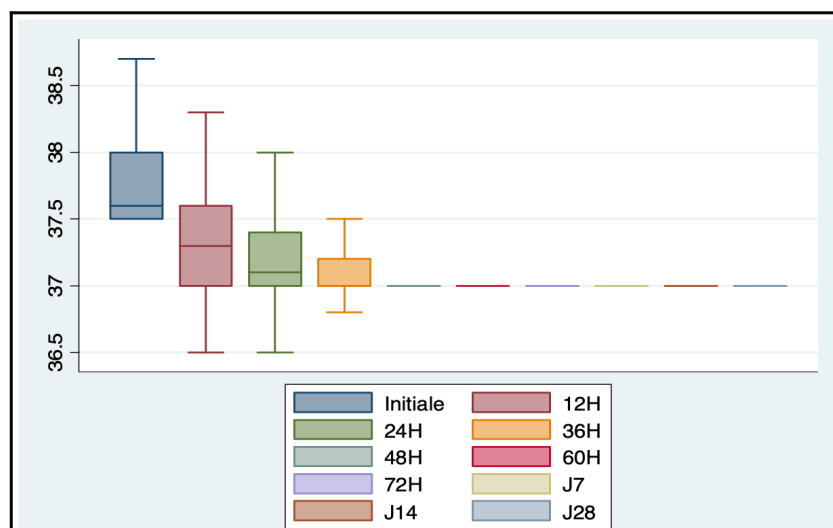


Figure 19 : Évolution de la température corporelle des malades traités par la tisane d'Artemisia annua (59).

Une baisse significative de la parasitémie a été notée 24 heures après la première prise de tisane suivie d'une disparition totale de la parasitémie vers la 36^{ème} heure (Figure 20). En effet, à l'inclusion, la parasitémie moyenne était de 4940 trophozoïtes/mm³, à J₁ elle passe à 800 trophozoïtes/mm³ et s'annule à J₃. Une baisse hautement significative de la parasitémie (98%) est donc à noter dès les 24 heures après la première prise de tisane ($p < 0,0011$).

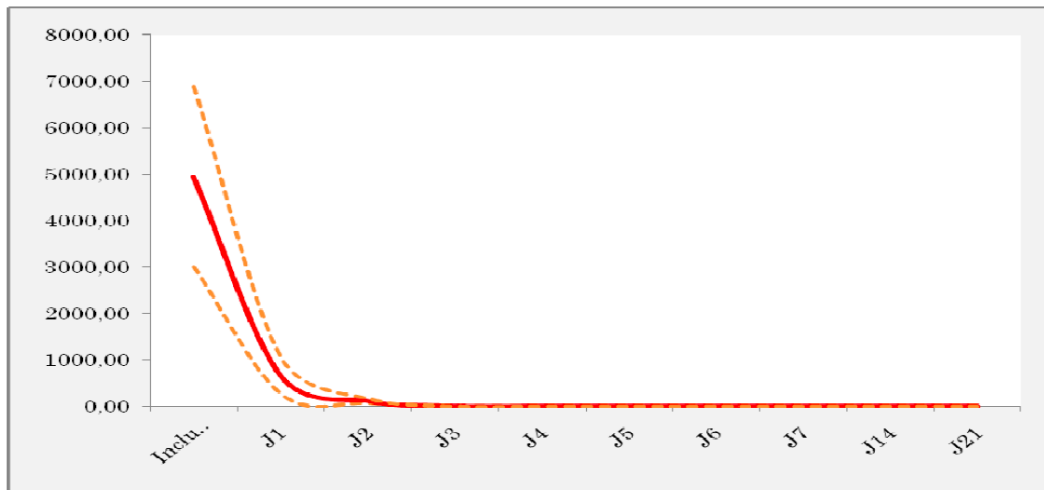


Figure 20 : Évolution de la parasitémie des malades traités par la tisane d'*Artemisia annua* (59).

Durant ces sept jours de traitement, la tolérance clinique de la tisane a été bonne avec très peu d'effets secondaires (Figure 21). Néanmoins, quelques effets indésirables tels que des nausées et de la fatigue sont à noter chez deux des patients (1,8%). De plus, les auteurs notent que certains malades ont même rapporté après la prise de tisane une augmentation de l'appétit.

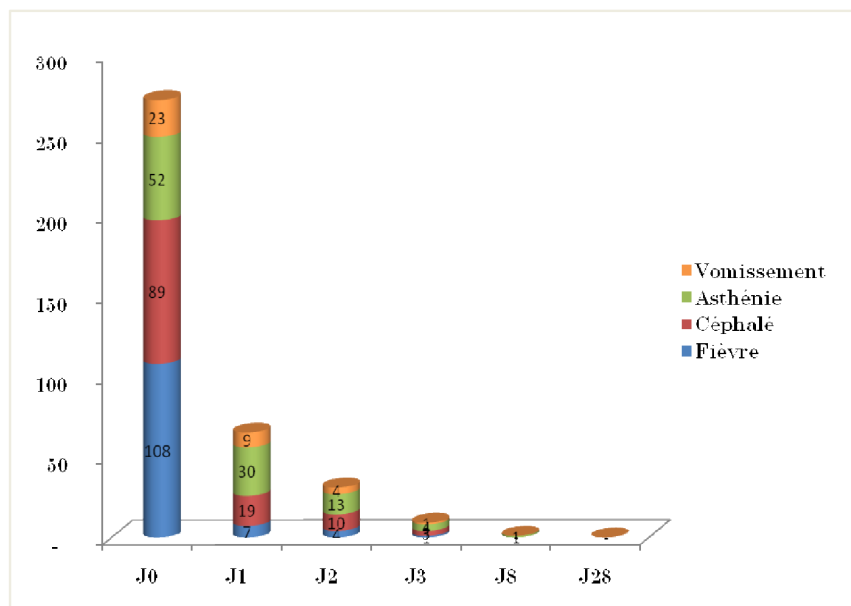


Figure 21 : Évolution de la fréquence des symptômes chez les malades au cours du traitement par la tisane d'*Artemisia annua* (59).

Conclusion avancée par les auteurs de cette étude : La tisane à base d'*Artemisia annua* L. est efficace sur le paludisme causé par *Plasmodium falciparum* du fait de l'observation d'une guérison parasitaire de 100% à J28. Ces résultats permettent la promotion de son usage en remplacement de l'artémisinine pure dans les pays où l'accessibilité financière aux médicaments est difficile.

b) Biais et limites

✚ Les critères d'inclusion et d'exclusion

Les auteurs indiquent que cette étude s'est déroulée sur une période de six mois dans la ville de Cotonou au Bénin sans préciser les dates associées. En 2018, le taux d'incidence nationale est de 185 cas pour 1000 habitants en particulier chez les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans (60). D'après l'OMS, les zones de forte transmission se définissent par plus d'un cas déclaré pour 1000 habitants par an ce qui implique de sélectionner des patients ayant une parasitémie > 2000 trophozoïtes/ μ l (61). Pour les enfants, la parasitémie pathogène se situe entre 3000 et 6000 trophozoïtes/ mm^3 de sang. Cependant, dans cette étude les patients ont été inclus avec une parasitémie minimale de 1000 parasites/ μ l.

Concernant les critères d'exclusion, les auteurs excluent les patients ayant un bilan biologique perturbé sans précision à ce sujet alors que le paludisme simple entraîne fréquemment une anémie hémolytique et une thrombopénie (< 100 000 plaquettes/ μ l (61)). D'autres part, les auteurs précisent que les symptômes les plus fréquemment retrouvés étaient de la fièvre, des céphalées, une asthénie, des vomissements et plus rarement des nausées et de l'ictère. Cependant, plus de deux vomissements par jour et datant de moins de 24 heures sont des critères d'exclusion alors que sur la figure 21, 23 patients (21,3%) présentaient des vomissements à J₀. Aucune informations à propos de l'inclusion de ces patients ayant des vomissements n'ont été données par les auteurs. Pour finir, les patients utilisant un autre traitement antipaludique conventionnel dans les 20 jours précédents étaient exclus. Or l'utilisation de gélules ou tisanes *Artemisia annua* ne font pas partie des marqueurs d'exclusion ce qui signifie que leur administration a pu avoir lieu durant les 20 jours précédant cet essai.

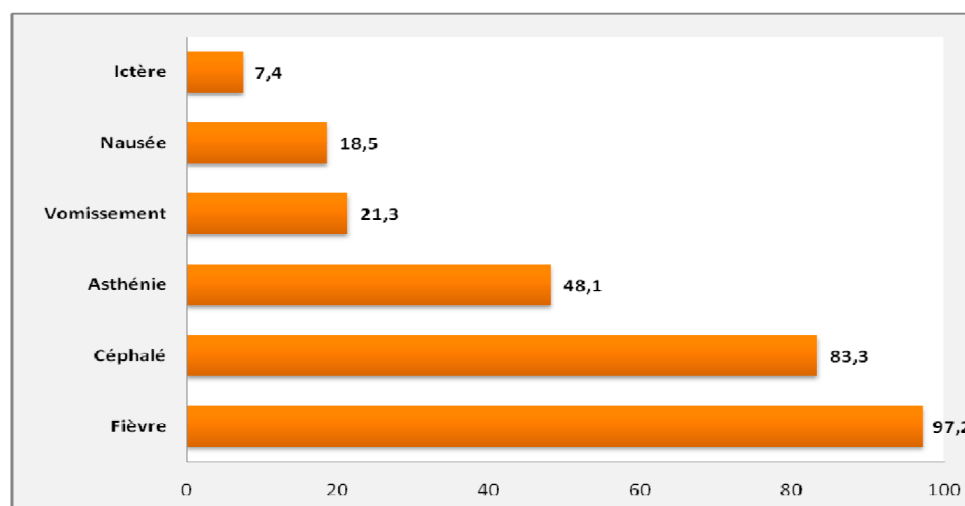


Figure 22 : Fréquence des symptômes observés chez les malades traités par la tisane d'Artemisia annua (59).

✚ Les signes cliniques

Dans la figure 21, 108 patients possèdent de la fièvre alors que la figure 23, 97,2% des patients ont de la fièvre soit 105 personnes au total. La fièvre étant un des critères d'inclusion 100% des patients devaient présenter une fièvre.

D'autre part, sur la figure 19, 75% des patients avaient moins de 38°C de fièvre, ce qui n'est pas compatible avec la description du texte qui précise que la température moyenne était de 38,24°C à l'inclusion. Même constat pour les céphalées, 89 patients en possèdent dans la figure 21, alors que 83,3% des patients en présentent dans la figure 22, soit 90 patients.

✚ Les signes biologiques

Comme le précisent les auteurs, la maladie palustre entraîne souvent une thrombopénie qui est quasi-systématique. Dans un des tableaux présentés par les auteurs, le taux moyen des plaquettes était de $182\,686,9 /\text{mm}^3 \pm 13\,522$ contre $183\,103/\text{mm}^3$ retrouvé dans le texte à J₀. Ces taux ne sont pas en faveur d'une thrombopénie. Aussi présente chez ces patients, l'anémie n'est pas vérifiée car aucun dosage d'hémoglobine n'a été réalisé au cours de cette étude. Les auteurs précisent seulement qu'un suivi de celle-ci a été réalisé chez l'ensemble de patients traités montrant une baisse entre J₀ et J₈ puis l'apparition d'une légère augmentation à partir de J₈. L'incohérence de ces signes biologiques et cliniques peuvent faire douter du diagnostic de paludisme non compliqué lors de l'inclusion de ces patients.

✚ La parasitémie

Il est précisé qu'aucun échec thérapeutique précoce et parasitologique tardif n'ont été observés. Cependant, un cas d'échec clinique tardif à J₂₁ a quant à lui été décrit dans le texte par les auteurs. Le taux de réponse clinique parasitologique à J₁₄ était de 100% et à J₂₈ de 99,07%. La réalisation de la PCR à la suite de cet échec a révélé qu'il s'agissait d'un nouvel ADN parasite le jour de la recrudescence, ce qui a fait penser à une nouvelle infestation parasitaire. Sans précision de la part des auteurs, cet échec a tout simplement été exclu des résultats donnant une réponse clinique et parasitologique de 100% à J₂₈. Cet événement décrit dans le texte n'a pas été signalé dans la figure 20, retraçant l'évolution de la parasitémie au cours de l'étude et qui s'arrête à J₂₁ au moment où l'échec s'est déclaré.

✚ La surveillance

Les tisanes ont été préparées et administrées par l'équipe médicale durant sept jours. À la suite de cela durant les trois premiers jours de l'étude un examen physique complet a été réalisé à l'hôpital puis en ambulatoire à J₁₄, J₂₁ et J₂₈. Aucune information n'ont été données sur la modalité de prise des tisanes de J₄ à J₇ qui a pu être administrée à l'hôpital comme en ambulatoire. Les patients étaient surveillés après la prise pour vérifier l'apparition des vomissements afin de remplacer la dose. De façon similaire, pas de données de la part des auteurs n'ont été indiquées quant aux délais entre le vomissement et la prise d'une nouvelle dose. D'après le tableau XIX, des examens ont été réalisés entre J₄ et J₁₄, cependant rien n'a été mentionné dans le texte. De plus, ce tableau XIX résume le suivi des patients au cours de cet essai en indiquant qu'il a été réalisé sur l'efficacité et la tolérance des tisanes ainsi que de gélules d'*Artemisia annua* alors que les patients devaient recevoir exclusivement des tisanes.

c) Synthèse et analyse critique

L'objectif principal des auteurs ne peut être atteint du fait des nombreuses imprécisions présentes dans le texte remettant en cause les résultats obtenus en fin d'étude. L'ensemble des étapes d'inclusion, d'exclusion, de suivi et de surveillance n'a pas été réalisées de façon précise.

De plus, cet essai devait se concentrer sur l'évaluation de l'efficacité des tisanes d'*Artemisia annua*, ce qui n'a pas été respecté par les auteurs car l'étude porte aussi sur l'évaluation de l'efficacité et la tolérance de gélules biaisant ainsi les résultats. Pour finir, les auteurs annoncent un taux de guérison parasitaire de 100% à J₂₈, taux n'ayant jamais été atteint même avec le meilleur des traitements antipaludiques.

6. Étude de Munyagi *et al.* (2019)

a) Présentation de l'étude

Titre : Infusions de thé *Artemisia annua* et *Artemisia afra* par rapport à l'artésunate-amodiaquine (ASAQ) dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* dans un essai clinique randomisé à grande échelle en double aveugle (62).

L'objectif de cette étude est de montrer que la prise d'*A. annua* ou *A. afra* sous forme d'infusions était supérieure ou équivalente à la prise d'ASAQ contre le paludisme.

✦ Les critères d'inclusion de cette étude sont : adultes ou enfants ≥ 5 ans avec une température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ et une parasitémie comprise entre 2 000 et 200 000 trophozoïtes/ μL .

✦ Les critères d'exclusion sont quant à eux nombreux : paludisme grave, dénutrition, vomissements et diarrhées répétés, autres maladies infectieuses concomitantes, allergies au ACT, grossesse ou allaitement, insuffisance rénale, cardiaque et hépatique, ainsi que tous patients traités avec des médicaments antipaludiques ou antibiotiques ayant un effet antipaludique dans les sept jours précédents l'effet.

Tableau XX : Résumé des différences entre les deux bras d'études.

	Groupe ASAQ	Groupe infusion
Méthodes	Essai clinique randomisé en double aveugle. Répartition au hasard (Figure 23).	
Échantillon	472 patients	471 patients dont : - 223 <i>A. afra</i> - 248 <i>A. annua</i>
Posologies	4 mg/kg d'artésunate 10 mg/kg d'amodiaquine Schéma : - Un comprimé d'ASAQ de J ₁ à J ₃ puis placebo J ₄ à J ₇ - Infusion placebo de J ₁ à J ₇ d'une espèce d' <i>Artemisia</i> contenant moins de 0,2 g/L de matière végétale.	Infusions contenant feuilles et brindilles d' <i>A. annua</i> (1,34 – 1,70 mg d'artémisinine) ou <i>A. afra</i> (0,0036 mg d'artémisinine). Schéma : - Un litre d'infusion par jour pendant sept jours - Comprimés placebo de J ₁ à J ₇ (comprimés de saccharose/glucose achetés en pharmacie).
Essai	Traitements administrés à l'hôpital Suivi des patients à J ₁ , J ₂ , J ₃ , J ₄ , J ₇ , J ₁₄ , J ₂₁ , J ₂₈ (parasitémie et gamétocytes)	

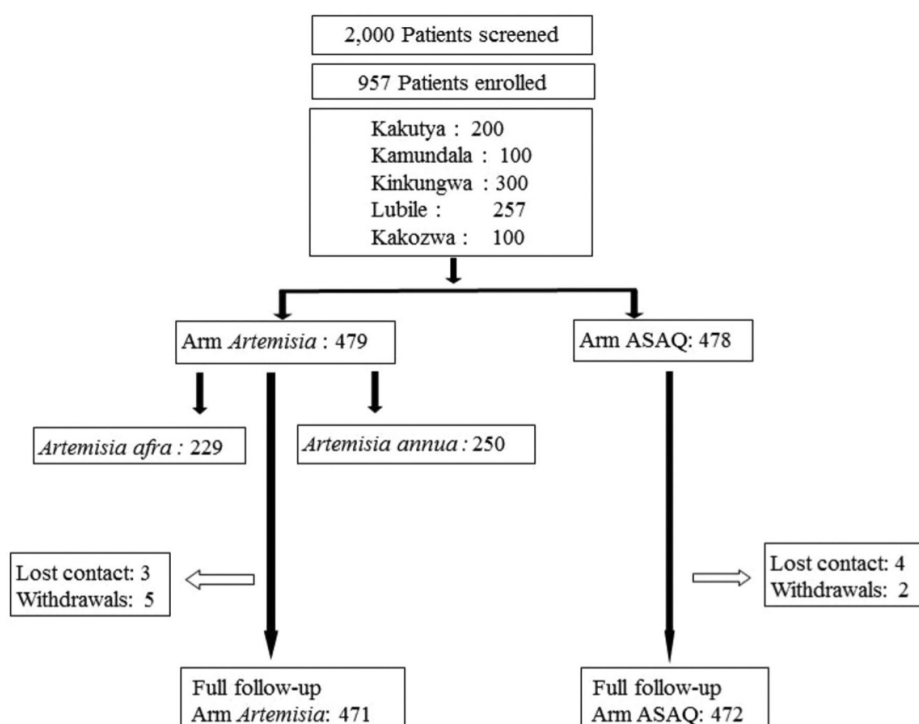


Figure 23 : Diagramme en flux de l'essai (62).

Tableau XXI : Résultats obtenus dans les deux groupes en fin d'étude.

Résultats			
	Groupe ASAQ	Groupe Infusion <i>A. annua</i>	Groupe Infusion <i>A. afra</i>
Disparition des trophozoïtes	14 jours	24 heures	
Disparition de la fièvre	48 heures	24 heures	
Disparition des gamétocytes	A partir de J ₇ diminution du taux de gamétocytes. A J ₂₈ , gamétocytes présents chez 10 patients sur les 472	Indétectables à partir de J ₁₄	
Guérison à J ₂₈ (= absence de parasitémie)	Enfants : 49,5% Adultes : 30%	Enfants : 91,2% Adultes : 100%	Enfants : 82,4% Adultes : 90,7%

Conclusion avancée par les auteurs de cette étude : Les patients sous *Artemisia spp* ont guéri du paludisme plus rapidement et efficacement que les patients sous ASAQ. De plus, dans le groupe « infusion », il n'y avait pas de gamétocytes détectables et moins d'effets indésirables que dans le groupe ASAQ. Les perfusions d'*A. annua* et *A. afra* sont des polythérapies avec de meilleurs résultats que l'ASAQ contre le paludisme.

Cet article, rejeté en 2020, a montré plusieurs problèmes dans la conception de cet essai.

b) Biais et limites

✦ La randomisation et le double aveugle

Tout d'abord, la procédure de randomisation (Figure 23) n'est pas claire ou inadéquate. Cette procédure suppose que lorsque les patients sont inclus dans l'étude, la distribution des différentes enveloppes de traitement se faisait dans l'ordre d'inclusion des patients. Ce qui n'est pas contraignant lorsque le volume est équivalent pour chaque groupe, ce qui n'est pas le cas ici. En effet, les placebos d'*Artemisia* du groupe ASAQ étaient des infusions de 0,2 g/jour de la plante, ce qui implique une quantité moindre de feuilles et brindilles que le groupe infusion. Cette différence de taille des enveloppes suppose que le double aveugle a pu être biaisé car le médecin aurait pu identifier le groupe auquel le patient appartenait.

✦ La conception des comprimés placebo

Il est précisé dans l'article que les comprimés placebo d'ASAQ furent achetés en pharmacie, cependant l'obtention d'un placebo visuellement identique nécessite généralement une préparation pharmaceutique spécifique. L'auteur de l'essai n'indique pas l'existence ou non d'une similitude visuelle entre le vrai comprimé d'ASAQ de Sanofi-Aventis et ces comprimés achetés en pharmacie. Cette absence de similitude n'est pas en faveur du maintien du double aveugle.

✦ Le nombre de patients

Aucune explication n'a été donnée sur le nombre de patients dépistés qui est exactement égal à 2000, ainsi que leur répartition dans les différents centres, qui sauf pour un, n'est pas un multiple de 100 (Figure 23). De plus, la taille de l'échantillon possède quelques incohérences, notamment dans le groupe *A. afra*, où l'organigramme (Figure 23) montre 229 patients randomisés, alors que dans le tableau XXII, on retrouve 249 patients dans le groupe *A. afra*. Tout comme le groupe ASAQ, où l'on retrouve un nombre total de patients de 490 au lieu des 478 patients inclus au début de l'étude. Cela signifie que ces 32 patients ont été intégrés au cours de l'étude sans aucunes précisions.

Tableau XXII : Niveau de diminution du portage des gamétocytes déterminé au microscope J_{14} - J_{26} au sein des différentes tranches d'âges (62).

Age (y)	<i>A. annua</i> n/N (%)	<i>A. afra</i> n/N (%)	ASAQ n/N (%)
Children (5–15)	43/43 (100%)	102/102 (100%)	111/114 (97.4%)
Adults (16–65)	205/205 (100%)	147/147 (100%)	369/376 (98.1%)
Total	248/248 (100%)	249/249 (100%)	480/490 (98.0%)

N, total within age group; n, number of patients with microscopically undetectable gametocytes.

✚ Le mode d'expression des résultats

D'autres incohérences dans les résultats concernant la fièvre dans les différents groupes sont à relever. En effet, il est mentionné que la fièvre a diminué en 48 heures pour ASAQ et en 24 heures pour *A. annua* et *A. afra*. En revanche, la moyenne des patients ayant de la fièvre à J₃ pour le groupe *A. afra* est de 50% (Figure 25) alors que la moyenne de la fièvre pour ce même groupe à J₃ est inférieure à 37°C (Figure 24) ce qui ne peut pas être compatible.

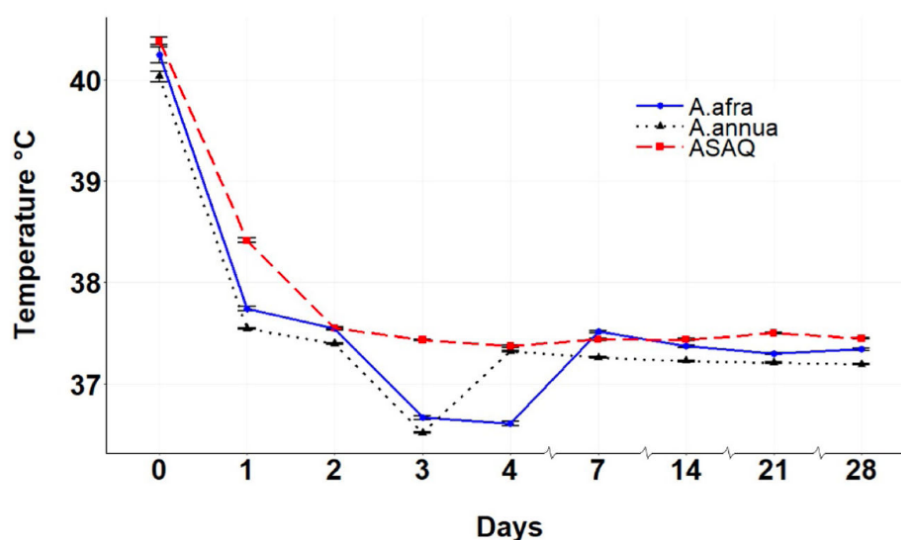


Figure 24 : Courbe de la température des patients des trois groupes en fonction du temps (62).

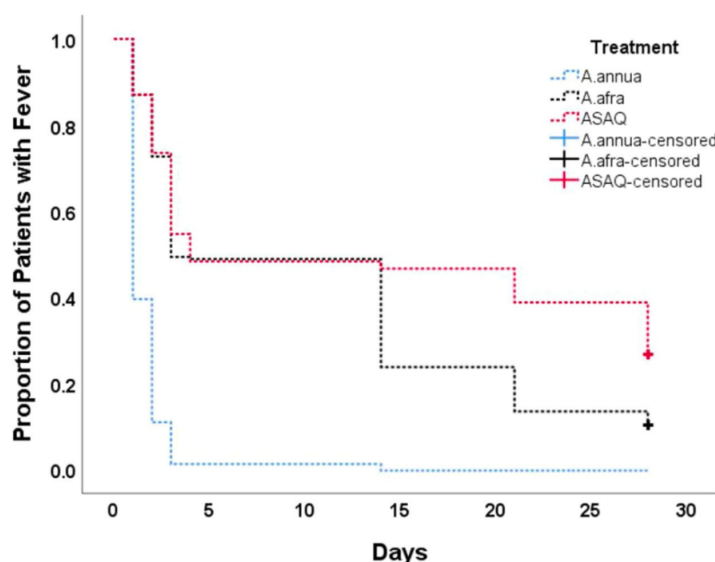


Figure 25 : Progression moyenne de la fièvre des différents groupes en fonction du temps (62).

Même incohérence que pour la fièvre, l'élimination des trophozoïtes dans les 24 heures des groupes *A. annua* et *A. afra* est contredit dans les résultats où l'on retrouve 80% des patients encore parasités à J₇ dans les trois groupes.

Tableau XXIII : Âge moyen et médian des patients et niveaux parasitaires sur les cinq sites d'études à J₀ et J₂₈ (62).

Arm	Median (y)	Site average patient age (y)				
		Kakutya	Kikungwa	Kamundala	Lubile	Kakozwa
<i>A. annua</i>	19	22	25	24	nm	20
<i>A. afra</i>	25	28	27.5	nm	26.5	13.5
ASAQ	29	33	29.5	32	23	21
Overall	26	26	28.5	28	25	19.5
<i>Median parasites D0 mean/site (trophozoites/μl)</i>						
<i>A. annua</i>	42,426	40,632	36,120	$\geq 50,000^a$	nm	$\geq 50,000^a$
<i>A. afra</i>	33,911	39,860	39,150	nm	29,617	$\geq 50,000^a$
ASAQ	43,018	38,702	42,106	$\geq 50,000^a$	39,915	$\geq 50,000^a$
<i>% parasites D28 mean/site (trophozoites/μl)</i>						
<i>A. annua</i>	na	91% = 0 9% $\leq$ 10	100% = 0	100% = 0	nm	100% = 0
<i>A. afra</i>	na	100% = 0	100% $\leq$ 10 ^b	nm	100% = 0	92% = 0 8% $\leq$ 10
ASAQ	na	93% = 0 7% $\leq$ 10	6% = 0 84% $\leq$ 10 10% $\geq$ 10,000	100% $\leq$ 10	100% = 0	38% $\leq$ 10 62% $\geq$ 10,000

Dans le tableau ci-dessus, présenté par les auteurs, on y retrouve une grande hétérogénéité d'efficacité des traitements entre les sites d'études. En effet, la parasitémie négative à J₂₈ pour le groupe ASAQ est de :

- 0% à Kamundala
- 100% à Lubile

Même constat pour le groupe *A. afra* avec une parasitémie à J₂₈ allant de :

- 0% à Kikungwa (n = 7)
- 100% à Kakutya.

De plus, la mise en forme des résultats dans ce tableau est inhabituelle, les résultats globaux sont exprimés en médiane au lieu de moyenne et inversement pour les résultats par sites. Aucuns indicateurs de distribution tels que les écart-type, écart-moyen, valeurs minimales ou maximales ne sont communiqués.

c) Synthèse et analyse critique

Ces nombreuses discordances méthodologiques et résultats remettent en cause les conclusions de cet essai. Il est impossible d'affirmer que les infusions d'*A. annua* et *A. afra* peuvent avoir de meilleurs résultats que l'ASAQ, thérapie conventionnelle, contre le paludisme et que celles-ci soignent plus rapidement et plus efficacement. Au vu de ces résultats discordants, l'ACT doit rester le premier traitement du paludisme simple à *P. falciparum*.

B. Réfutation des tisanes d'armoise annuelle dans le monde scientifique

1. Étude de Mueller *et al.* (2004)

a) Présentation de l'étude

Titre : Essai contrôlé randomisé d'une préparation traditionnelle d'*Artemisia annua* L. (armoise annuelle) dans le traitement du paludisme (63).

L'objectif de cet essai pilote ouvert réalisé de février à décembre 2001, dans l'est de la République Démocratique du Congo est d'évaluer l'efficacité et l'innocuité des préparations de tisanes d'*A. annua* dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum*.

✦ Les critères d'inclusion de cette étude sont : parasitémie > 2000 trophozoïtes/ μ l ; âge $\geq$ 18 ans ; résident en permanence dans la province du Sud Kivu depuis plus de cinq ans ; et au moins un des symptômes cliniques suivants : fièvre, frissons, fatigue, nausées, douleurs articulaires, vomissements, maux de tête, douleurs abdominales ou diarrhées.

✦ Les critères d'exclusion de cette étude sont : grossesse ; allaitement ; prise d'un traitement pour le paludisme dans les deux semaines précédant le recrutement ; prise d'un traitement médical actuel (moderne ou traditionnel) pour d'autres maladies ; maladies chroniques et évolutives connues ou potentiellement mortelles. De plus, pour les groupes *A. annua* des échantillons d'urines ont été examinés afin d'exclure les patients ayant des analyses positives à la chloroquine ou quinine (Figure 26).

Tableau XXIV : Résumé des différences entre les trois bras d'étude.

	Groupe QN	Groupe A5	Groupe A9
Matériel et Méthodes	Répartition au hasard des patients éligibles. A J ₀ et J ₃ : les patients ont pris la première dose sous surveillance directe.	<i>Artemisia annua</i> cv artemis. Répartition au hasard des patients éligibles. La tisane était fraîchement préparée chaque matin par le personnel médical. La première dose (250 ml) était prise sous la supervision directe du personnel médical puis les doses suivantes à 12, 16 et 20 heures.	
Échantillon	A J ₀ : 48 patients	A J ₀ : 45 patients	A J ₀ : 39 patients
Posologies	Un comprimé de sulfate de quinine : 500 mg trois fois par jour durant sept jours.	Un litre par jour de tisanes <i>A. annua</i> (5g d'herbes/litre) réparti en quatre doses de 250 ml durant sept jours. Au total pour un litre = 47 mg d'artémisinine.	Un litre par jour de tisanes <i>A. annua</i> (9g d'herbes litre) réparti en quatre doses de 250 ml durant sept jours. Au total pour un litre = 94 mg d'artémisinine.
Suivi et surveillance	A J ₃ et J ₇ : le pouls, la tension et la température corporelle ont été enregistrés. Un interrogatoire à l'aide d'un questionnaire standardisé sur les symptômes cliniques et les événements indésirables a été réalisé auprès des patients.		

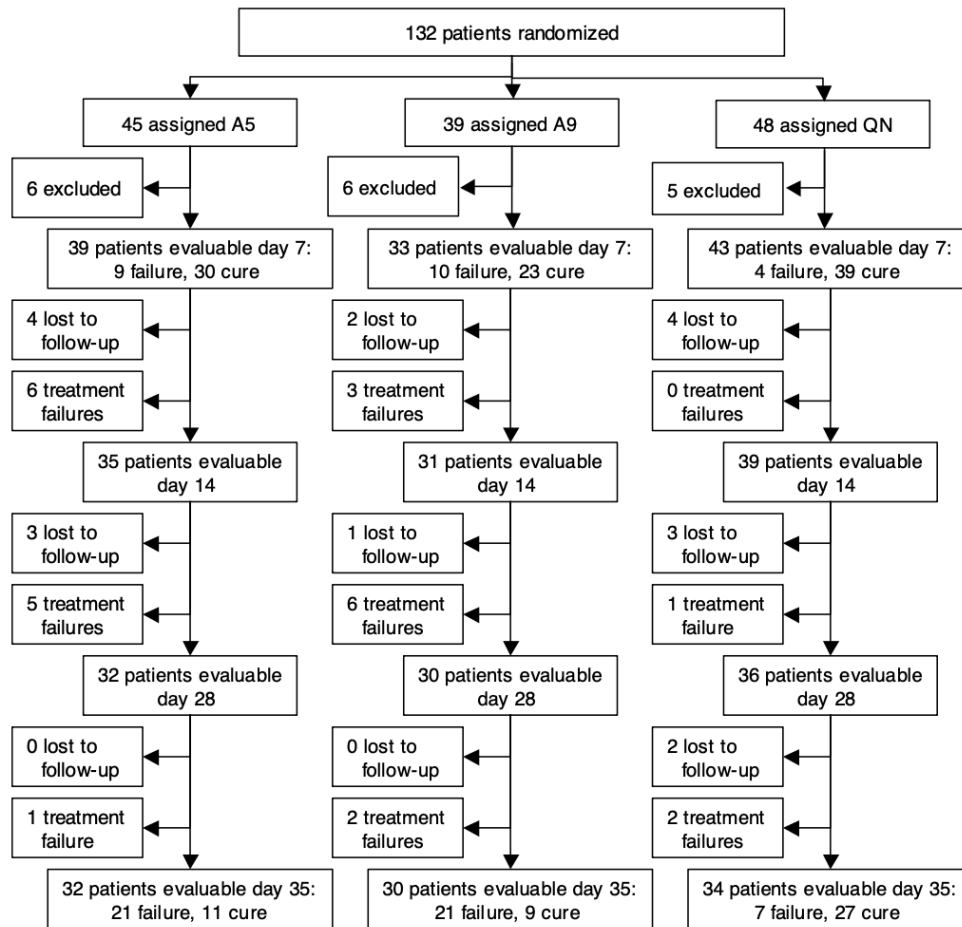


Figure 26 : Randomisation des patients dans les trois bras d'étude (63).

Les critères de réussite :

- Le critère de jugement principal était le taux de guérison à J₇ : c'est-à-dire tous les patients ayant un frottis sanguin négatif à J₇.
- Les critères de jugement secondaire comprenaient les taux de guérisons à J₁₄, J₂₈ et J₃₅ ainsi que l'évolution des symptômes cliniques enregistrés par le questionnaire standardisé.

Les auteurs ont considéré que toute réapparition parasitaire après le septième jour était considérée comme une recrudescence, donc un échec thérapeutique. Ces critères d'échec thérapeutique sont :

- Le développement d'un paludisme grave ou de signes de danger,
- Une parasitémie à J₃ ≥ J₀,
- Une parasitémie toujours présente à J₇,
- Une élimination initiale à J₇ suivi d'une recrudescence jusqu'à J₃₅.

Après ces sept jours de traitement, les taux de guérison étaient en moyenne de 74% pour les préparations de tisane *Artemisia annua* contre 91% pour la quinine (Tableau XXV).

Tableau XXV : Efficacité du traitement de sept jours avec des préparations d'A. annua dans le paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum comparé à la quinine (63).

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

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

Conclusion avancée par les auteurs : La monothérapie avec *Artemisia annua* L ne peut être recommandée comme alternative aux antipaludéens modernes.

b) Biais et limites

✚ La conception de l'étude

Cet essai pilote randomisé contrôlé est constitué de trois bras d'études avec pour chaque groupe un traitement différent. En dépit d'une répartition au hasard des patients, l'insu ne faisait pas parti des caractéristiques de cette étude, introduisant la possibilité de nombreux biais : conscients et inconscients. De plus, malgré le manque de données concernant la randomisation, les 132 patients inclus dans l'étude ont été inscrits dans ces trois groupes de façon similaire en ce qui concerne le sexe, l'âge, le poids et les symptômes cliniques. Les critères d'inclusion et d'exclusion de ces patients sont globalement objectifs et proches de ceux recommandés par l'OMS (54). En revanche, toutes les exclusions et les échecs de traitement durant cette étude n'ont pas été détaillés (Figure 26).

✚ La surveillance et le suivi

Durant cette étude, le suivi des patients a été incomplet. En effet, certains paramètres cliniques ont été enregistrés à J₃ et J₇ mais pas les autres jours. Un enregistrement quotidien de ces paramètres aurait apporté un niveau de preuve supplémentaire à cet essai. De plus, il aurait été plus judicieux de présenter ces paramètres sous forme de graphique ou de tableau afin de faciliter la compréhension des lecteurs face à leur évolution.

Malgré tout, cette étude est l'une des seules à avoir établi un suivi des patients jusqu'à J₃₅ permettant au mieux d'avoir des informations sur la possibilité de recrudescence. Cependant, les auteurs ont considéré que toutes réapparitions parasitaires après J₇ étaient une nouvelle recrudescence du paludisme, soit un échec thérapeutique. Une distinction entre recrudescence et réinfestation auraient pu être réalisée par PCR pour une fois encore augmenter le niveau de preuve.

Un autre point concernant la surveillance est à souligner : l'observance des patients. Seule la première prise de tisane, se réalisant le matin, a été faite sous la surveillance directe de l'équipe médicale. Étant nécessaire et indispensable dans la réalisation d'une étude clinique, l'observance stricte de ces patients ne peut être établie. Le même problème concernant la prise de quinine est à noter.

c) Synthèse et analyse critique

Dans la réalisation de cette étude, l'évaluation de l'efficacité clinique, au travers des critères de jugement établis par les auteurs, ne suivent pas à la lettre les recommandations de l'OMS (54). La guérison parasitologique à J₃₅ en moyenne pour les deux bras d'étude *Artemisia* est de 32,3% (A5 : 34,4% et A9 : 30%) et de 79,4% pour le bras QN. D'après le tableau XXV, l'efficacité thérapeutique est bien supérieure dans le groupe QN durant toute l'étude par rapport aux deux bras *Artemisia* et ce quelle que soit la quantité de tisane utilisée. Ces résultats sont sans appel et montrent bien la supériorité d'une des thérapies conventionnelles utilisées dans le traitement du paludisme en Afrique subsaharienne.

Par conséquent, il ne peut être recommandé une monothérapie à base de tisanes *Artemisia annua* L. dans le traitement du paludisme non compliqué dans une population semi-immunisée comme alternative aux antipaludiques modernes du fait du fort taux de recrudescence enregistré dans les groupes A5 et A9.

2. Étude de Blanke *et al.* (2008)

a) Présentation de l'étude

Titre : Préparation de thé *Artemisia annua* comparée à la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) dans le traitement du paludisme à *falciparum* non compliqué chez l'adulte : un essai clinique randomisé en double aveugle (64).

Cette étude a été réalisée dans la région de Kigoma, en Tanzanie, de septembre 2002 à mars 2003.

✚ Les critères d'inclusion de cette étude sont : paludisme à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie comprise entre 2 000 trophozoïtes/ μ l et 40 000 trophozoïtes/ μ l ; âge $\geq$ 18 ans ; résident pendant plus de cinq ans dans cette région ; et au moins un des symptômes cliniques suivants : fièvre, fatigue, vertiges, nausées, douleurs articulaires, vomissements, maux de tête ou douleurs abdominales (Tableau XXVI).

Tableau XXVI : Résumé des caractéristiques de base des patients (64).

	<i>Artemisia annua</i> 5 g/L	<i>Artemisia annua</i> 9 g/L	Sulfadoxine/pyrimethamine
Age (years), median	23	22.5	20
Sex (male)	4 (100%)	3 (50%)	6 (67%)
Body weight (kg), median	63.5	60	53
Parasitaemia day 0 trophozoites/ μ L, median	10,220	4600	8000

✦ Les critères d'exclusion de cette étude sont : grossesse et allaitement ; la prise de traitement antipaludique dans les deux semaines précédant le recrutement ; tous les signes cliniques de paludisme grave ; la prise de traitement médical (moderne ou traditionnel) pour d'autres maladies chroniques, évolutives ou potentiellement mortelles connues. Avant la randomisation et après sept jours de traitement, des échantillons d'urines ont été réalisés afin d'exclure les patients utilisant d'autres médicaments antipaludiques.

Tableau XXVII : Résumé des différences entre les trois bras d'études.

	Groupe SP	Groupe A5	Groupe A9
Matériel et Méthodes	Répartition au hasard des patients éligibles.	<i>Artemisia annua</i> cv Artemis, avec une teneur de 1,4% d'artémisinine. Répartition au hasard des patients éligibles.	
Échantillon (Figure 27)	A J ₀ : 10 patients	A J ₀ : 7 patients	A J ₀ : 6 patients
Posologies	A J ₀ : 25 mg/kg de sulfadoxine et 1,25 mg/kg de pyriméthamine.	De J ₀ à J ₇ : Un litre par jour de tisane <i>A. annua</i> (5 g d'herbes/litre).	De J ₀ à J ₇ : Un litre par jour de tisane <i>A. annua</i> (9 g d'herbes/litre).
	De J ₀ à J ₇ : Un litre de thé placebo <i>Radix gentianae</i> (3,5 g d'herbes/litre)	A J ₀ : Un comprimé placebo.	A J ₀ : Un comprimé placebo.
Suivi et surveillance	De J ₀ à J ₇ : le pouls, la tension et la température corporelle ont été enregistrés. A J ₃ , J ₇ , J ₁₄ et J ₂₈ : Un questionnaire standardisé sur les symptômes cliniques et les événements indésirables a été réalisé auprès des patients.		

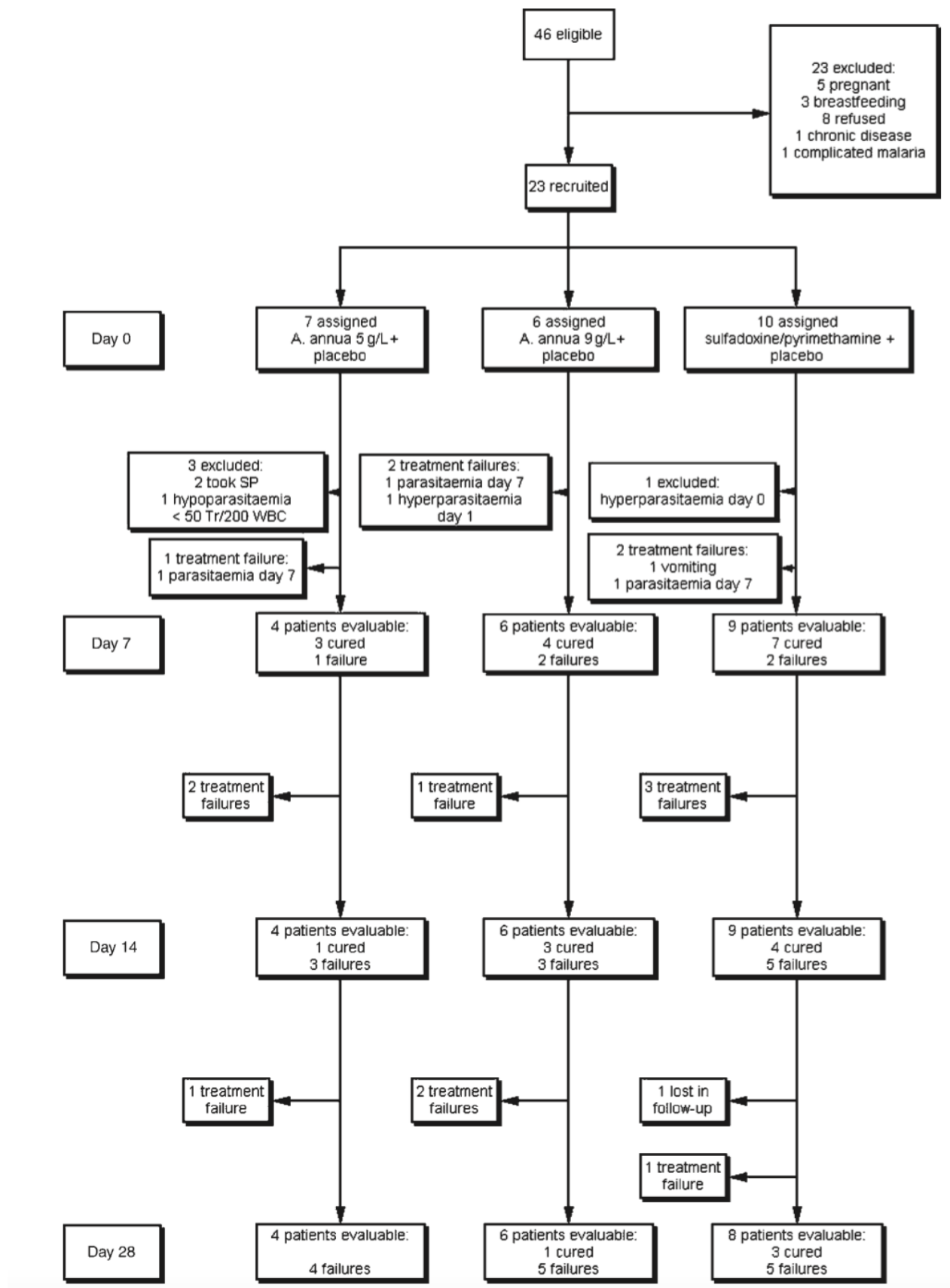


Figure 27 : Randomisation des patients dans les trois bras d'étude (64).

Les critères de réussite :

- Le critère de jugement principal était le taux de guérison à J₇ : c'est-à-dire tous les patients ayant un frottis sanguin négatif à J₇.
- Les critères de jugement secondaire comprenaient les taux de guérisons à J₁₄ et J₂₈ ainsi qu'une modification des symptômes cliniques.

Les critères d'échec thérapeutique :

- Le développement d'un paludisme grave ou de signes de danger,
- Une parasitémie à $J_3 \geq J_0$,
- Une parasitémie toujours présente à J₇,
- Toutes récurrences jusqu'à J₂₈.

L'hypothèse 0 des auteurs, était qu'au septième jour il n'y aurait pas de différence significative des taux de guérison entre les trois groupes. Cependant, du fait des taux de recrudescence chez tous les patients randomisés et traités selon le protocole ont conduit à la décision de mettre fin au recrutement des patients en mars 2003. La plupart des symptômes se sont améliorés ou ont disparu dans les trois jours après le début du traitement dans les trois groupes d'étude.

Deux événements indésirables ont été observés durant cette étude :

- Un patient du groupe SP a dû être traité à partir de J₂ avec de la quinine en raison de vomissements excessifs.
- Un patient du groupe A9 a dû être traité à partir de J₁ avec de la quinine en raison d'une hyperparasitémie avec la présence de signes d'atteintes cérébrales.

Conclusion avancée par les auteurs : La monothérapie avec des préparations de thé *Artemisia annua* ne peut être recommandée pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué chez l'adulte.

b) Biais et limites

✦ L'échantillonnage

Au moins 48 patients par groupe devaient être nécessaires pour répondre aux critères de l'hypothèse 0. Les auteurs avaient donc prévu d'inscrire environ 60 patients par bras d'étude. Cependant, à J₀ seul 23 patients ont été inclus dans cette étude sur les 180 patients prévus : sept patients dans le groupe A5, six patients dans le groupe A9 et 10 patients dans le groupe SP (Figure 27).

✦ Le double aveugle

La randomisation des patients a été réalisée après l'ouverture d'enveloppes opaques préparées au préalable en blocs de 30 patients qui contenaient la totalité du traitement de l'étude. Cependant, la quantité de tisane n'étant pas la même pour chaque groupe, le double aveugle est difficilement réalisable. En effet, bien que l'aspect et le goût de ces tisanes étaient similaires, la différence de poids de ces tisanes (3,5 g ; 5 g ; 9 g) pouvait permettre aux patients et à l'équipe médicale de connaître le groupe auquel ils appartenaient.

Un autre point est à relever concernant ces tisanes : sa différence de présentation. L'une contenait des racines de *Radix gentianae* et l'autre des feuilles séchées de *Artemisia annua*. Cette deuxième différence accentue nos doutes sur la présence d'un véritable insu. De plus, aucune information n'a été donnée par les auteurs quant à l'aspect des comprimés placebo et ceux du groupe SP. L'absence d'une similitude entre le vrai comprimé et le placebo ainsi qu'un volume différent des enveloppes ne sont pas en faveur du maintien du double aveugle pouvant biaiser les résultats.

✦ Le suivi et la surveillance

Concernant le suivi, certains paramètres cliniques ont été enregistrés quotidiennement jusqu'à J₇ pour tous les patients. La parasitémie a été déterminée à partir de frottis sanguins épais et l'évolution des symptômes cliniques a été notée par le biais de questionnaires standardisés. La plupart des symptômes ont disparu dans les trois jours suivant la première prise du traitement et seulement deux événements indésirables non distinguables des symptômes liés au paludisme ont été relevés. A noter que tous ces paramètres cliniques enregistrés ne figurent pas sous forme de tableau ou de graphique, rendant ces résultats moins explicites. De plus, le protocole de prise en charge des vomissements dans cette étude n'est pas indiqué, les délais de réadministration des comprimés et/ou des tisanes n'étant pas évoqués.

✦ Le critère de jugement principal

Les critères de jugement de l'efficacité thérapeutique ne suivent pas scrupuleusement ceux recommandés par l'OMS (Annexe 3), mais comme ceux de l'étude de Mueller *et al.* (2004) ils s'en rapprochent fortement (54). La guérison parasitologique à J₂₈ pour le bras *Artemisia annua* est de 10% (0% pour A5 et 16% pour A9) et de 37,5% pour le bras SP. Le faible taux de guérison parasitologique pour le bras SP s'explique par l'apparition de résistance à cet antipaludique en Afrique depuis quelques années (Figure 28).

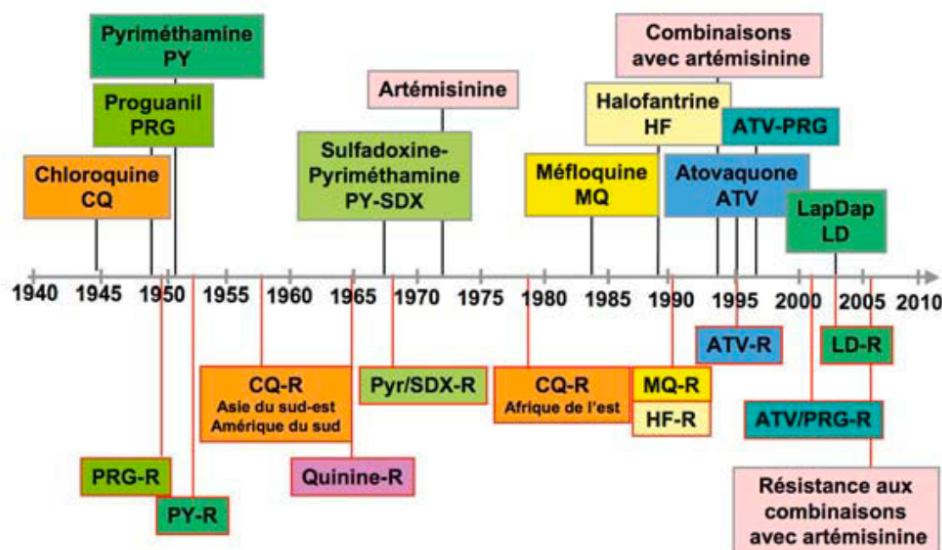


Figure 28 : Introduction des antipaludiques et apparition des résistances (encadrés rouges) de Plasmodium falciparum (65).

c) Synthèse et analyse critique

Du fait de ces résultats décevants, les auteurs ont décidé d'arrêter cet essai en mars 2003. Cependant, malgré cet arrêt anticipé, les doutes sur la qualité de l'insu et un échantillon de faible puissance, les résultats sont sans équivoques : l'utilisation de préparation de thé ne peut être recommandé dans le traitement du paludisme non compliqué chez l'adulte.

3. Étude de Magalhães *et al.* (2016)

a) Présentation de l'étude

Titre : *Artemisia annua* une nouvelle version d'un thé traditionnel dans le cadre d'un essai clinique randomisé et contrôlé pour le traitement du paludisme (66).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité thérapeutique de la tisane *A. annua* chez des patients atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum* en la comparant au Coartem®, traitement de première intention. Cette étude a été réalisée dans municipalité de Tucuruí-PA au Brésil, où la majorité des patients ont été envoyés à l'hôpital régional et hospitalisés pendant toute la durée du traitement indépendamment du groupe choisi au hasard.

✚ Les critères d'inclusion de cette étude sont : âge compris entre 18 et 50 ans ; poids compris entre 40 et 80 kg ; une parasitémie inférieure à 50 000 formes asexuées/mm³ de sang ; pas de dysfonctionnement des organes vitaux ; absence de maladies concomitantes graves.

✚ Les critères d'exclusion de cette étude sont : une incapacité à boire ou à manger ; plus de deux épisodes de vomissements dans les dernières 24 heures ; inconscience ; une incapacité de s'asseoir ou de se lever sans aide ; une parasitémie supérieure à 50 000 formes asexuées/mm³ de sang ; un paludisme avec signes de gravité ; grossesse et l'utilisation d'antipaludéen au cours des 20 derniers jours.

Tableau XXVIII : Résumé des caractéristiques des deux bras d'études.

	Groupe Tisane	Groupe Coartem®
Matériel	Variété <i>A. annua</i> CPQBA-UNICAMP cultivée à Paulínia-SP-Brazil et emballée dans des sachets individuels contenant 1,25 g de feuilles broyées séchées.	Comprimé : artéméter-luméfantrine
Méthode	Consentement libre et éclairé suivant les recommandations de l'OMS. Cas de paludisme non compliqué à <i>Plasmodium falciparum</i> .	
Échantillon	70 patients en théorie 8 patients en pratique	70 patients en théorie 8 patients en pratique
Posologie	250 ml de tisane toutes les six heures pendant sept jours.	Suivi de la posologie et du régime thérapeutique associés à ce médicament.
Surveillance et suivi	Contrôle de la guérison et de la parasitémie à J ₁₄ , J ₂₁ , J ₂₈ . Évaluation des paramètres biochimiques à J ₀ , J ₃ , J ₇ , J ₂₁ , J ₂₈ . Pas d'effets indésirables observés.	

La clairance parasitaire par Coartem® a été excellente et tous les patients ont montré des résultats négatifs entre J₂ et J₃ sans survenue de recrudescence jusqu'à J₂₈ (Tableau XXIX).

Tableau XXIX : Évolution de la parasitémie des patients infectés par Plasmodium falciparum traités par Coartem® (66).

Coartem	Parasitaemia against 200 leucocytes			
	D0	D1	D2	D3
Patient 1	85	0	0	0
Patient 2	15	0	0	0
Patient 3	8	2	0	0
Patient 4	76	22	0	0
Patient 5	122	25	0	0
Patient 6	20	3	0	0
Patient 7	253	99	14	0
Patient 8	294	177	2	0

La clairance parasitaire pour le groupe tisane n'a pas été satisfaisante pour les auteurs entraînant l'arrêt précoce du recrutement dû à la survenue successive de recrudescence dans ce groupe (Tableau XXX). A J₄, quatre patients ont montré une parasitémie négative, néanmoins pour ces patients une recrudescence s'est produite quelques semaines après (= résistance 1). Pour les patients 1, 2 et 7, la parasitémie à J₁ était bien supérieure à celle de J₀ (= résistance 3). A l'inverse pour le patient 8 la parasitémie a diminué à J₁ puis augmenté à J₂ (= résistance 2). Ces patients ayant les résistances R2 et R3 ont été considérés comme des échecs thérapeutiques.

Tableau XXX : Évolution de la parasitémie des patients infectés par Plasmodium falciparum et traités par les tisanes Artemisia annua (66).

Tea	Parasitaemia against 200 leucocytes						
	D0	D1	D2	D3	D4	Recrudescence	Resistance
Patient 1	19	168					R3
Patient 2	177	307	304				R3
Patient 3	10	6	4	0	0	D10	R1
Patient 4	52	21	1	0	0	D14	R1
Patient 5	149	104	35	9	0	D21	R1
Patient 6	105	48	13	2	0	D14	R1
Patient 7	18	224					R3
Patient 8	92	38	105				R2

Conclusion avancée par les auteurs : Il est évident que l'efficacité actuelle de ses tisanes ne permet pas de substituer le au médicament officiel mais elles pourraient éventuellement être considérées comme faisant partie de la thérapeutique, principalement parce que le médicament officiel n'est pas toujours immédiatement disponible.

b) Biais et limites

+ Les critères d'inclusion et d'exclusion

Tous les critères indiqués par les auteurs dans cette étude sont assez proches de ceux recommandés par l'OMS. En revanche concernant la parasitémie, le taux maximum accepté devait être inférieur à 50 000 formes asexuées/mm³ de sang. Cependant, il n'y a pas de taux supérieur d'indiqué, ce qui peut engendrer l'inclusion de patients non parasités. De plus, aucuns signes cliniques, notamment la fièvre, ne sont pris en compte dans l'inclusion de ces patients, contrairement à la plupart des études vu précédemment.

+ L'échantillonnage

Les auteurs se sont basés sur les études menées en 2000 et 2004 par Mueller *et al.* afin de déterminer le nombre de patients nécessaires pour leur étude. Il a été calculé, par le test de proportion, comme étant deux échantillons unilatéraux de 61 patients qui donneraient une certitude statistique pour démontrer les différences avec 80% de puissance à 5% de signification. Considérant un taux de perte estimé à 10% au cours de la procédure, le nombre de patients théorique dans chaque bras d'étude a été défini comme 70, soit un nombre total de 140 patients. Cependant, du fait des difficultés de recrutement notées par les auteurs et des résultats non satisfaisants, au totals seul 16 patients ont été inclus dans cette étude. Il est difficile d'obtenir des données statistiquement pertinentes et une conclusion efficace avec un échantillon de faible puissance.

+ Le matériel

L'efficacité thérapeutique de la tisane *Artemisia annua* a été comparée au traitement actuel de première intention à savoir Coartem® (artéméter-luméfantrine). Cette variété *A. annua* CPQBA-UNICAMP a été cultivée durant les trois années du projet, et la matière première obtenue constituée uniquement de feuilles a été broyée et emballée dans des sachets individuels contenant exactement 1,25 g, quantité nécessaire pour la préparation de ces tisanes. Ces préparations ont été réalisées à l'hôpital avec la méthode suivante : 300 ml d'eau filtrée qui a été portée à ébullition, puis hors du feu les feuilles séchées ont été ajoutées, ensuite ce mélange a été agité et laissé au repos pendant 15 min. Cependant, il est décrit dans le texte que seulement 250 ml d'infusion ont été donnés au groupe tisane toutes les six heures durant sept jours. De plus, cette préparation énoncée par les auteurs n'est pas en adéquation avec les méthodes ancestrales décrites dans la pharmacopée chinoise, où la quantité de feuilles *A. annua* nécessaire à ces tisanes se situe entre 4,5 et 9 g. Le choix de cette méthode n'a pas été argumentée par les auteurs. La production n'était peut-être pas suffisante afin d'obtenir des sachets de 5 g pour chaque patient ou bien les auteurs ont considéré que 1,25 g était suffisant pour obtenir un effet clinique, choix peu judicieux du fait des résultats peu satisfaisants obtenus dans d'autres études avec des quantités supérieures d'*A. annua*.

D'autre part, cette étude multicentrique n'a pas utilisé la même méthode de préparation de ces tisanes dans tous les lieux de suivi des patients. En effet, les patients recrutés à Anajás recevaient des tisanes préparées de manière différente pouvant influencer les résultats finaux. Contrairement au bras tisane, aucune information n'a été donnée sur les comprimés de Coartem® concernant les fournisseurs, la posologie ou encore la durée de traitement nécessaire. La seule information donnée est que les patients du groupe Coartem® ont reçu un total de 525 mg d'artémisinine.

✚ Le suivi et la surveillance

Dans la majorité des cas, les patients ont été traités et contrôlés à l'hôpital régional de Tucuruí, où ils ont été hospitalisés pendant les sept jours de traitement. Cependant, dans les autres lieux de recrutement, notamment Anajás et Goianésia do Pará, le diagnostic initial a été effectué à l'hôpital, tandis que le traitement et le contrôle ont été effectués à domicile. Cette différence de prise en charge peut laisser quelques doutes quant à l'observance de ces patients n'étant pas surveillés lors de la prise contrairement aux patients de l'hôpital régional. Pour ces patients, les préparations de ces tisanes n'ont pas été réalisées dans les mêmes conditions que ceux pris en charge à l'hôpital. De plus, de nombreux paramètres biologiques ont été contrôlés jusqu'à J28 mais aucune information sur l'évolution des signes cliniques n'a été donnée, paramètres indispensables dans ce type d'étude pour évaluer l'efficacité de ces tisanes.

c) Synthèse et analyse critique

Les résultats sont sans appel, les tisanes à base de feuilles *A. annua* ne peuvent pas être substituées aux traitements conventionnels indiqués dans la prise en charge du paludisme au vu du taux important de recrudescence retrouvé ici. Même si ces préparations ont été utilisées pendant plus de mille ans sans aucun rapport de résistance, comme le rappellent les auteurs, son utilisation ne doit pas être encouragée dans les populations vivant dans les zones où le paludisme sévit. Une utilisation de ces tisanes ne ferait que reporter la prise en charge des patients atteints avec un traitement antipaludique conventionnel qui est nécessaire au contrôle de la parasitémie. En effet, plus tôt la parasitémie est maîtrisée, mieux cela est, car un jour d'infection de plus représente un jour de transmission de plus par le vecteur.

4. Étude d'Argemi *et al.* (2019)

a) Présentation de l'étude

Titre : Paludisme importé à *Plasmodium falciparum* après la prise de formes non pharmaceutiques d'*Artemisia annua* en prophylaxie (67).

La promotion des tisanes d'*Artemisia annua*, par le biais de différentes associations, a permis l'émergence de leur utilisation dans le traitement et la prophylaxie du paludisme malgré la prise de position de l'OMS en 2012 contre l'utilisation de ces médicaments non pharmaceutiques. Afin de déterminer le poids de cette promotion émergente dans ces pays, une enquête rétrospective nationale a été réalisée de 2016 à 2019 et a été présentée lors des 20^{ème} Journées Nationales de l'Infectiologie.

✚ Le critère d'inclusion de cette étude est : tous patients ayant reçu un diagnostic de paludisme à la suite d'une prophylaxie non pharmaceutique à base d'artémisinine.

Les cliniciens ont été contactés via la liste de diffusion nationale des spécialistes des maladies infectieuses, le Centre National de Référence sur le Paludisme et l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM), qui collectent tous les événements indésirables signalés. Lors de cette période d'étude, 18 cas ont été rapportés dans 14 sites français différents (Tableau XXXI).

Tableau XXXI : Déclaration de cas de paludisme après l'utilisation d'une prophylaxie à base de formes non pharmaceutiques de Artemisia annua.

Pays de séjour	Sexe Féminin	Sexe Masculin	Formes non pharmaceutiques <i>Artemisia</i>	Prescripteur	Paludisme grave
Burkina Faso	1		Infusion de feuilles sèches	1 x Médecin	1 x Non
Kenya	1	1	Infusion de feuilles sèches	2 x Automédication	2 x Non
Gabon	1	1	Infusion de feuilles sèches Extraction liquide	2 x Automédication	2 x Oui
Bénin	2	5	Infusion de feuilles sèches Inconnu	1 x Médecin 6 x Automédication	2 x Oui 5 x Non
Cameroun		3	Pilule Infusion de feuilles sèches	1 x Inconnu 2 x Automédication	2 x Oui 1 x Inconnu
Côte d'Ivoire	1	1	Infusion de feuilles sèches Pilule	1 x Inconnu 1 x Automédication	2 x Non
Afrique centrale		1	Infusion de feuilles sèches	1 x Automédication	1 x Oui

De ces 18 patients, huit ont déclaré une observance complète soit 57,1%.

La durée médiane de ces séjours était de 19,5 jours et au total sept patients (38,9%) ont présenté un paludisme grave à leur retour, selon les critères de l'OMS, entraînant une insuffisance rénale chronique dans un des cas. Le traitement a été conduit conformément aux directives nationales avec l'utilisation d'ACT (artémether + luméfántrine ou DHA + pipéraquine) après au moins 24 heures d'artésunate en cas de paludisme grave qui a permis la guérison dans 100% des cas.

b) Synthèse et analyse critique

L'utilisation de ces formes non pharmaceutiques à base *A. annua* et *A. afra* sont apparues en Afrique comme un nouveau mode de prophylaxie du paludisme malgré l'absence totale de preuves cliniques de son efficacité. En dépit d'un manque de données concernant cette étude rétrospective, les résultats obtenus montrent que ces différentes prophylaxies par *Artemisia* restent inefficaces et dangereuses. L'utilisation de ces tisanes menacent l'efficacité de l'artémisinine elle-même en exposant les patients à des doses sous-thérapeutiques. La teneur en artémisinine dans ces préparations est extrêmement faible et sa demi-vie est inacceptable pour être utilisée à titre préventif. Actuellement, les mesures de prophylaxie restent basées sur la chimioprophylaxie antipaludique conventionnel, tels que atovaquone et proguanil, doxycycline ou méfloquine, ainsi que la prévention des piqûres de l'anophèle.

C. Résumé des articles évaluants l'efficacité des tisanes *Artemisia annua*

Auteurs et lieu de publication	Caractéristiques	Limites méthodologiques / biais
Mueller et al. (2000) <i>Journal of Ethnopharmacology, Volume 73, Issue 3, December 2000, Pages 487-493</i>	▪ Curative ▪ Prospective ▪ Non contrôlée ▪ Ouverte ▪ Multicentrique	→ Biais de sélection (parasitémie, signes cliniques subjectifs). → Éléments clinico-biologique incompatible avec le paludisme → Suivi des patients : jusqu'à J₅.
Mueller et al. (2004) <i>Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 98, 318-321</i>	▪ Curative ▪ Prospective ▪ Randomisée ▪ Contrôlée ▪ Ouverte	→ Immunité partielle. → Suivi clinique et parasitologique lacunaire. → Pas de PCR. → Observance douteuse.
Blanke et al. (2008) <i>Tropical Doctor, Mai 2008</i>	▪ Curative ▪ Prospective ▪ Randomisée ▪ Contrôlée ▪ Double aveugle	→ Immunité partielle. → Échantillon de faible puissance. → Double aveugle douteux. → Pas de protocole concernant les vomissements et le délai de réadministration du traitement.
Gebeyaw et al. (2010) <i>Ethiopian Journal of Health and Biomedical Sciences, Vol.2, No.2</i>	▪ Curative ▪ Non contrôlée	→ Biais d'information : guérison clinique subjective. → Biais de sélection : pas de critères d'inclusion / exclusion, doute sur le diagnostic du paludisme. → Pas de suivi post traitement. → Observance douteuse.
Ogwang et al. (2012) <i>Tropical Journal of Pharmaceutical Research, Volume 11, No. 3</i>	▪ Prophylaxie ▪ Randomisée	→ Biais d'information : inclusion de faux négatif possible. → Immunité partielle. → Biais de sélection : randomisation non équilibrée (moustiquaires). → Goût amer : <i>A. annua</i> ≠ <i>T. sinensis</i>.
Chougouo Kengne et al. (2012) <i>Presented at the MLM Pan-African Malaria Conference, 2 to 6 November 2009, Nairobi, Kenya no 312</i>	▪ Curative ▪ Prospective ▪ Randomisée	→ Absence du double aveugle. → Méthodologie lacunaire. → Biais de suivi. → Incohérence texte et schéma/tableaux.
Zime-Diawara et al. (2015) <i>International Journal of Biological and Chemical Sciences, Volume 9, No. 2, Pages 692</i>	▪ Curative ▪ Prospective ▪ Non contrôlée ▪ Ouverte	→ Zone endémique : immunité partielle. → Incohérence schémas et texte. → Biais de suivi (inclusion/exclusion) → Éléments clinico-biologique incompatible avec le paludisme. → Taux d'efficacité incohérent (PCR).
Magalhães et al. (2016) <i>Advances in Bioscience and Biotechnology, Volume 7, No. 12, Pages 543-563</i>	▪ Curative ▪ Prospective ▪ Randomisée ▪ Contrôlée	→ Immunité partielle. → Doute sur le diagnostic de paludisme. → Échantillon de faible puissance. → Méthodologie lacunaire.
Argemi et al. (2019) <i>Journal of Travel Medicine</i>	▪ Rétrospective ▪ Prophylaxie ▪ Non randomisée ▪ Non contrôlée	→ Biais de mémoire. → Biais de recrutement. → Méthodologie lacunaire.
Munyagi et al. (2019) <i>Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytomedicine, Volume 57, Pages 49-56</i>	▪ Curative ▪ Prospective ▪ Contrôlée ▪ Randomisée ▪ Double aveugle	→ Immunité partielle. → Double aveugle douteux. → Échantillon incohérent texte / figures. → Mode d'expression des résultats incohérent.

V. Discussion générale

Le paludisme fait partie des principales maladies mondiales qui affectent chaque année des millions de personnes dans le monde. Selon le rapport de l'OMS, entre 2000 et 2015, l'incidence du paludisme dans la région africaine a baissé de 42% passant de 427 à 246 cas pour 1 000 personnes à risque. Durant cette même période, l'incidence des décès dus au paludisme a baissé de 66% passant de 153 à 52 décès pour 100 000 personnes à risque (68). D'ici 2030, l'OMS souhaiterait réduire d'au moins 90 % la mortalité et l'incidence du paludisme dans 35 pays et empêcher une résurgence du paludisme dans tous les pays exempts. Ces objectifs ambitieux, mais réalistes à l'échelle mondiale, permettraient ainsi de faire reculer considérablement le fardeau imposé par le paludisme en termes de santé publique (12).

L'armoise annuelle, ou *Artemisia annua* L., a été utilisée durant des siècles, sous forme de tisanes, dans la médecine traditionnelle chinoise comme fébrifuge. Outre sa vertu antipyrétique, l'armoise annuelle a aussi été utilisée plus spécifiquement comme antipaludique, grâce à un de ses composés appelé l'artémisinine et détenant une efficacité remarquable contre le parasite responsable du paludisme multi-résistant. La caractérisation de ce composé par l'équipe du professeur Tu Youyou a entraîné une forte demande d'artémisinine et de ses dérivés. Étudiées pour la première fois en 2001, les combinaisons à base d'artémisinine (CTA) ont réduit massivement le nombre de décès dus au paludisme grâce à l'effet synergique d'un dérivé d'artémisinine et d'une autre drogue antipaludique. Ainsi depuis 2006, ces CTA sont recommandées par l'OMS comme étant le meilleur traitement disponible pour le paludisme à *P. falciparum*. Cependant certains facteurs, notamment économiques et commerciaux, viennent entraver le déploiement de ces recommandations. En premier lieu, le coût des médicaments antipaludiques, notamment sur le continent africain, freine leur accès. Pour exemple, au Cameroun, les centres de santé permettant le suivi et la délivrance de thérapies sont pour la plupart privés, par conséquent payants. La prise en charge du paludisme pour un enfant et un adulte impaludés au Cameroun coûte environ l'équivalent d'un salaire mensuel, par an (69). Le deuxième problème principal concerne la fiabilité des médicaments qui ne sont pas toujours dispensés sous le contrôle des autorités sanitaires. Le trafic de médicaments falsifiés reste courant dans certains pays provoquant une certaine défiance des populations qui préfèrent se retourner vers des alternatives, souvent plus traditionnelles, comme la phytothérapie. Dans le cadre des thérapies antipaludiques, cet engouement populaire a été renforcé par la communication massive issue de nombreuses associations qui garantissaient que l'utilisation de tisanes à base d'armoise annuelle soignaient efficacement du paludisme. Observée sur internet et ailleurs, la promotion de ces tisanes a été positionnée par certains comme une alternative fiable face à la lutte mondiale du paludisme. Fondée en 2013 par Lucile Cornet Vernet, l'association « La maison de l'*Artemisia* » a été l'une des premières associations à se lancer dans le battage médiatique. Elle se revendique capable d'améliorer les preuves scientifiques concernant l'efficacité des formes non pharmaceutiques de *A. annua*, et d'encourager le développement de culture locale dans les zones où le paludisme sévit. Sur son site internet, on retrouve de nombreuses études scientifiques citées et détaillées afin d'appuyer l'efficacité clinique de ces tisanes et ainsi de rassurer les consommateurs grâce aux résultats a priori « prodigieux » obtenus dans ces études. De façon générale, les essais cliniques réalisés comportent de nombreux problèmes concernant la méthodologie, et aucune n'applique à la lettre les critères d'évaluation établis par l'OMS. En effet, ces études ont été portées sur de faibles échantillons de patients qui, vivant dans des zones endémiques, sont pour la plupart semi-immunisés, entraînant des biais de sélection. L'inclusion et l'exclusion des patients de certaines de ces études ne permettent pas d'affirmer un diagnostic fiable, faussant les résultats finaux. De plus, la période de suivi des patients pour la quasi-totalité des études n'a pas été suffisante, excluant le risque de recrudescence ou de réinfection.

De nombreux autres biais et incohérences pourraient être relevés.

Par ailleurs, au-delà de toutes les limites méthodologiques listées ci-dessus, il faut savoir que les concentrations d'artémisinine retrouvées dans les tisanes sont, en réalité, trop faibles pour être pharmacologiquement efficaces. Par exemple, retrouvé dans d'anciens traités de *Materia Medica* chinoise et préconisé par certaines associations, un litre d'eau bouillante doit être ajouté à 5 g ou 9 g de feuilles séchées d'*A. annua* afin d'obtenir la tisane. Mais dans l'étude de Karin Rāth *et al.*, un litre de préparation aqueuse de 9 grammes contient 94,5 mg d'artémisinine (soit 19% de la dose quotidienne habituelle recommandée) (70). Cette concentration négligeable d'artémisinine est surtout vraie pour les plants sauvages de *A. annua* (0,5 à 0,8%). Pour essayer de contrer ce problème, des recherches ont été réalisées par certains auteurs (13) : action sur le climat, l'eau, le sol, la récolte, le séchage et la conservation. Dans des conditions idéales de culture et l'utilisation d'hybride, la concentration moyenne d'artémisinine retrouvée dans les feuilles séchées est de 1,38%, pouvant aller jusqu'à 2% lors de certaines expériences. Ainsi, on retrouve sur le site Internet de « La maison de l'*Artemisia* », un manuel détaillé permettant d'être guidé dans la réalisation des cultures à domicile de *A. annua* et *A. afra*. Cependant, il est – en pratique – presque impossible de contrôler les nombreux paramètres de culture nécessaires afin d'obtenir une concentration aussi élevée et uniforme d'artémisinine. Par ailleurs, contrairement à ce qui a pu être avancé, aucune preuve en faveur d'une synergie des flavonoïdes n'a été clairement apportée avec l'artémisinine (71). Le problème est similaire pour les gélules ou l'huile à base d'*A. annua*.

Au total, de très nombreux sites internet vendent ainsi ces tisanes d'*A. annua* proclamant l'efficacité miraculeuse de leur utilisation, le tout corroboré par les résultats obtenus par des études méthodologiquement douteuses. En 2007, les États membres de l'OMS ont appelé au retrait progressif du marché des monothérapies à base d'artémisinine par voie orale et au déploiement massif des CTA pour les remplacer (71). Malgré la résistance partielle à l'artémisinine retrouvée dans certaines parties de l'Asie du Sud, il semble toujours exister des traitements efficaces susceptibles d'éliminer toutes les souches de parasites responsables du paludisme. Cependant, dans de nombreux pays, un renforcement des systèmes de réglementation doit être nécessaire afin de protéger les patients contre les traitements contrefaits et non conformes. La facilité d'accès aux CTA grâce à ces nouvelles réglementations pourrait permettre la diminution de l'utilisation des tisanes d'*A. annua* et ainsi diminuer le risque d'apparition de résistance.

En France face à cet engouement, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) a suspendu en 2015 la mise sur le marché de produits à base d'*Artemisia* proposés sur internet ou par l'intermédiaire d'associations pour la prévention et le traitement du paludisme. La décision de cette suspension, retrouvée en annexe 4, s'accompagne de l'inquiétude de l'Académie Nationale de Médecine, face aux dangers immédiats pour la santé humaine de l'utilisation généralisée des formes non pharmaceutiques d'*Artemisia*, et est soucieuse de préserver l'avenir de l'efficacité thérapeutique de l'artémisinine (71). L'utilisation de ces tisanes entraîne un retard de diagnostic du paludisme, et par conséquent un retard de leur prise en charge avec les traitements conventionnels recommandés, ce qui peut causer le décès de ces patients concernés. De plus, l'administration de ces doses sous-thérapeutiques est susceptible d'accélérer, à long terme, le développement et la propagation de la résistance à l'artémisinine. En effet, la composition variable des tisanes d'*A. annua* suggère que l'utilisation généralisée et non contrôlée de ce remède puisse entraîner des taux infrathérapeutiques d'artémisinine dans le sang de leur utilisateur, permettant aux parasites exposés de développer une résistance à cet antipaludique. L'apparition de cette résistance à l'artémisinine et de ces dérivés pourrait provoquer la perte d'efficacité des CTA.

Ainsi, l'OMS et les instances françaises de santé ne justifient pas la promotion des tisanes de *A. annua* pour la prévention ou le traitement du paludisme. A ce jour, il est nécessaire de réaliser des essais cliniques suivant rigoureusement les lignes directrices de la recherche clinique pour justifier s'il existe une réelle efficacité thérapeutique des tisanes à base d'*A. annua*. Dans l'attente de nouvelles études, l'utilisation de tisanes de *A. annua* ne peut être conseillée dans la prise en charge et la prévention du paludisme.

Annexes

Annexe 1 : Les critères d'inclusion établis par l'OMS (54).

Les malades doivent être choisis sur la base des critères suivants :

- Âge situé entre 6 et 59 mois.
- Absence de malnutrition grave (définie comme suit : enfant dont le rapport poids/taille est inférieur à -3 écart type, ou inférieur à 70% de la médiane des valeurs de références normalisées NCHS/OMS, ou encore présentent un œdème symétrique touchant les deux pieds).
- Une infestation à *Plasmodium falciparum* uniquement, confirmée par une goutte épaisse (c'est-à-dire pas d'infestations mixtes).
- Densité parasitaire initiale. L'éventail de densités parasitaires initiales retenues diffère selon l'intensité de la transmission : pour les régions où il y a une transmission faible à modérée du paludisme, l'éventail acceptable se situe entre 1 000 et 100 000 formes asexuées/ μ l ; pour les régions où la transmission est élevée, l'éventail acceptable se situe entre 2 000 et 200 000 formes asexuées/ μ l.

Note : Ces densités parasitaires recommandées ont été modifiées par rapport au protocole précédent. Ces modifications s'appuient sur la définition de l'hyperparasitémie actuellement acceptée.

- Absence de signes généraux de danger chez les enfants de moins de 5 ans (voir encadré 1) ou d'autres signes de paludisme à *Plasmodium falciparum* grave et compliqué tels qu'ils figurent dans les définitions actuelles de l'OMS.

Encadré 1 : Signes généraux de danger liés au paludisme grave

- Incapacité à boire ou à prendre le sein
- Le fait de tout vomir
- Antécédents récents de convulsions
- Léthargie ou perte de connaissance
- Incapacité à se tenir assis ou debout

- Température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ou température rectale/tympanique $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$

Note : les malades ne seront pas exclus si leur température est $> 39,5^{\circ}\text{C}$, conformément aux définitions actuelles du paludisme grave.

- Se rendre aux visites de suivi indiquées et accès facile au centre de santé.
- Consentement éclairé fourni par le malade ou ses parents/tuteurs.
- Absence d'antécédents de réactions d'hypersensibilité à l'un quelconque des médicaments évalués. L'existence d'antécédents de réactions indésirables à des antipaludiques ou à d'autres médicaments est une information médicale essentielle qui doit être inscrite au stylo rouge ou surlignée dans le dossier du malade. Si de telles réactions à la chloroquine, à la quinine et à la méfloquine sont assez rares et relativement bénignes, les réactions aux médicaments contenant des sulfamides peuvent mettre la vie du patient en danger. On a décrit des réactions d'hypersensibilité aux artémisinines engageant le pronostic vital, mais elles semblent être très rares. Au cas où des antécédents de réactions allergiques à des médicaments, dont la nature précise ne peut être déterminée, ont été apportés, il est conseillé d'exclure le malade des tests portant sur le(s) médicament(s) suspect(s) et de lui administrer le traitement de substitution recommandé.

Annexe 2 : Les critères d'exclusion établis par l'OMS (54).

En général, les critères d'exclusion sont l'inverse des critères d'inclusion. Toutefois, certains médicaments spécifiques ont des critères d'exclusion qui leur sont propres et dont il faut tenir compte (bien que ces derniers soient sujets à des modifications au fur et à mesure que les données s'accumulent). Par exemple, pour l'atovaquone-proguanil, l'artéméther-luméfantrine et l'halofantrine, il y a un âge minimum ou un seuil de poids au-dessous duquel le traitement n'est pas recommandé. De plus, pour les études qui autorisent l'inclusion de patients de plus de 5 ans, d'autres critères d'exclusion peuvent être nécessaires, par exemple la grossesse ou l'allaitement, ou l'existence d'une maladie chronique grave sous-jacente (cardiaque, rénale, hépatique, VIH/SIDA).

Des antécédents d'utilisation d'antipaludiques ou la présence d'antipaludiques dans les urines ou le sang ne constituent pas des critères d'exclusion. Parce que, dans bien des endroits, un traitement antérieur par des antipaludiques est davantage la règle que l'exception, l'exclusion de patients traités antérieurement ne permettrait pas d'obtenir un échantillon représentatif de la population cible (c'est-à-dire des malades venant consulter dans les centres de santé pour le traitement d'un paludisme non compliqué). On a également montré que dans beaucoup d'endroits les antipaludiques peuvent être retrouvés dans le sang ou les urines de sujets qui nient en avoir utilisé auparavant, ce qui laisse à penser que les antécédents de traitement rapportés ne sont pas fiables. Néanmoins, les informations relatives à une utilisation antérieure de médicaments seront soigneusement collectées et notées pour chaque malade et pourront être utilisées pour stratifier les résultats.

C'est particulièrement important pour les antipaludiques d'action prolongée tels que la SP et la méfloquine. Une approche plus fiable pour déterminer l'utilisation antérieure de médicaments consiste à rechercher des antipaludiques dans les urines. Si cela peut donner une indication plus objective de l'utilisation qui est actuellement faite des médicaments dans la population, ce n'est pas un élément obligatoire de ce protocole.

Annexe 3 : Détermination des résultats de l'étude établis par l'OMS (54).

Le système de classification des réponses au traitement a été modifié et comprend désormais trois catégories pour les échecs thérapeutiques (Échec Thérapeutique Précoce, Échec Clinique Tardif, et Échec Parasitologique Tardif) et une pour les succès thérapeutiques (Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate). Les personnes qui connaissent bien l'ancien système de classification doivent examiner avec soin les définitions des nouvelles catégories, car des modifications subtiles, mais importantes, y ont été introduites.

Échec thérapeutique précoce	Il y a désormais qu'une seule définition standardisée de l'Échec Thérapeutique Précoce quelle que soit l'intensité de la transmission ; elle a été modifiée de façon à indiquer qu'il était absolument indispensable d'obtenir un étalement sanguin au jour 2. Auparavant, dans les régions de transmission intense, une goutte épaisse effectuée au jour 2 n'était nécessaire qu'en cas de fièvre. Cette modification a été apportée dans cette étude pour des raisons de sécurité : on a estimé qu'il était trop long d'attendre le jour 3 pour obtenir le premier étalement de suivi après traitement et que cela risquait de retarder l'administration du traitement de secours aux sujets présentant une parasitémie non réactive. Il est également absolument indispensable d'avoir une mesure de l'élévation de la température au jour 3 en présence d'une parasitémie pour pouvoir ranger une réponse dans la catégorie des Échecs Thérapeutiques Précoces (des antécédents de fièvre au jour 3 en présence d'une parasitémie n'est pas un indicateur d'échec acceptable).
Échec clinique tardif	Il n'y a qu'une définition de l'Échec Clinique Tardif quelle que soit l'intensité de la transmission. Cependant, des variations mineures existent du fait des différences observées dans les durées de suivi recommandées (14 jours dans les régions de transmission intense, 28 jours dans les régions où la transmission est faible à modérée). De plus, lorsque la transmission est faible à modérée et dans certaines conditions, il est autorisé le cas échéant de se servir des antécédents de fièvre au cours des 24 heures précédentes, plutôt que d'une mesure précise de cette dernière
Échec thérapeutique tardif	Bien qu'il n'y ait qu'une seule définition de l'Échec Parasitologique Tardif, il existe des différences selon l'intensité de la transmission pour les mêmes raisons que celles indiquées précédemment. De plus, il s'agit d'une nouvelle catégorie pour les gens qui avaient l'habitude d'utiliser le protocole antérieur dans les régions de transmission intense. Auparavant, la parasitémie asymptomatique survenant après le jour 4 faisait partie de la catégorie Réponse Clinique Adéquate. Cependant, les données relatives à la fréquence des échecs parasitologiques sont importantes pour bien comprendre l'efficacité d'un médicament et ne doivent pas être perdues.
Réponse clinique et parasitologique adéquate	La définition d'une réponse adéquate au traitement diffèrait également en fonction de l'intensité de la transmission dans le protocole antérieur. La nouvelle définition de ce qu'est une réponse adéquate au traitement gomme ces différences et ne s'applique qu'aux réponses dans lesquelles on met en évidence une guérison clinique et parasitologique à la fin de la période de suivi.

Annexe 4 : Décision du 22 avril 2015 portant suspension de la mise sur le marché à titre gratuit ou onéreux de la distribution, de la fabrication, de la détention en vue de la vente ou de la distribution à titre gratuit, de l'importation, de l'exportation, de la publicité du produit dénommé *Artemisia* de la société EXSENCE-OGNOPS (72).

Par décision du 22 avril 2015 du directeur général de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM),

Considérant l'absence de garantie quant à la provenance, la qualité, l'efficacité et la sécurité des médicaments vendus sur internet, en dehors du circuit pharmaceutique autorisé est contrôlé par les autorités sanitaires ;

Considérant que le produit *Artemisia* est présenté sur ce site internet comme indiqué notamment dans la prévention et le traitement du paludisme, à l'aide de allégations telles que « Pour aider à lutter contre le paludisme », « Traitement pour le paludisme », « efficace contre plusieurs souches de parasites responsable du paludisme » ; « L'armoise annuelle (...) efficace à titre curatif et non préventif contre des formes graves de paludisme (en particulier contre le *Plasmodium falciparum*) » ; « L'artémisinine est efficace contre plusieurs souches de parasites responsables du paludisme » ;

Considérant, au vu de ce qui précède, que le produit précité répond à la définition du médicament par présentation au sens de l'article L. 5111-1 du CSP ;

Considérant que le produit *Artemisia* n'a pas fait l'objet, avant sa commercialisation, d'une autorisation de mise sur le marché telle que prévue à l'article L. 5121-8 du CSP, justifiant de l'évaluation de sa qualité et de son rapport bénéfice/risque favorable ;

Considérant que la société EXSENCE-OGNOPS prépare et distribue en gros un médicament dont la préparation, la vente au détail et la distribution en gros sont réservées aux pharmaciens selon les dispositions de l'article L. 4211-1 du CSP ;

Considérant que la société EXSENCE-OGNOPS ne dispose pas d'un établissement pharmaceutique de fabrication et de distribution en gros des médicaments autorisés par l'ANSM conformément aux articles L. 5124-1, L. 5124-3 et R. 5124-2 du CSP ;

Considérant qu'il en résulte donc que le produit *Artemisia* est commercialisé est promu en infraction avec les règles qui lui sont applicables ;

Considérant de surcroît, qu'il ressort d'une recherche effectuée dans la base national de pharmacovigilance (BNPV) que plusieurs cas graves ont été rapportés avec des produits nommés *Artemisia* ou à base d'*Artemisia annua* L. utilisés en chimioprophylaxie du paludisme, notamment deux cas d'infection à *Plasmodium falciparum* chez deux jeunes patients nécessitant un transfert en réanimation ; que, par ailleurs, l'analyse de ces cas a conclu à l'inefficacité du traitement à base d'*Artemisia annua* L. utilisé en chimioprophylaxie du paludisme ;

Considérant qu'en conséquence la mise ou le marché à titre gratuit ou onéreux, la distribution, la fabrication, la détention en vue de la vente ou de la distribution à titre gratuit, l'importation, l'exportation et la publicité du produit *Artemisia* de la société EXSENCE-OGNOPS sont susceptibles de présenter un danger pour la santé humaine ;

La mise sur le marché à titre gratuit onéreux, la distribution, la fabrication, la détention en vue de la vente ou de la distribution à titre gratuit, l'importation, l'exportation et la publicité de *Artemisia* de la société EXSENCE-OGNOPS sont suspendues jusqu'à leur mise en conformité à la réglementation du médicament qui lui est applicable.

Bibliographie

1. OMS – Rapport 2022 sur le paludisme dans le monde : Questions & réponses avec le Dr Abdisalan Noor [Internet]. [cité le 24 février 2023]. Disponible : <https://www.who.int/fr/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022/questions-and-answers>.
2. Inserm – Paludisme : La science pour la santé. [cité le 10 février 2022]. Disponible : <https://www.inserm.fr/dossier/paludisme/>.
3. La Maison de l'Artemisia – Cette plante peut sauver des millions de vie. [cité le 2 mars 2023]. Disponible : <https://maison-artemisia.org/>.
4. Centre Hospitalier de Tourcoing – Traitement des paludismes. [cité le 22 avril 2022]. Disponible sur : <https://www.gilar.org/UserFiles/File/diaporamas/2017-du-atb-lille-paludisme.pdf>.
5. Pilly E. – Maladies infectieuses et tropicales. 25e éd. 2016. Paris : Alinéa plus ; 2015.
6. Yombi et Olinga – La malaria aspect clinique et thérapeutique [cité le 7 mars 2022]. Disponible sur : http://marchez-nord-sud.org/images/Malaria_yombijc_0.pdf.
7. Argy N, Houzé S. – Épidémiologie et cycle parasitaire d'un fléau mondial : le paludisme. Actual Pharm. 1 mars 2018 ; 57(574) :18-20. DOI : 10.1016/j.actpha.2018.01.004.
8. Wikipédia – Image Anophèle 2021. [cité le 26 mars 2022]. Disponible : <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Anoph%C3%A8le&oldid=188738050>.
9. IRI – Conditions Climatiques Saisonnières Favorables à la Transmission du Paludisme (CSMT). [cité le 26 mars 2022]. Disponible : <http://iridl.ldeo.columbia.edu/maproom/Health/Regional/Africa/Malaria/CSMT/index.html>.
10. Mazier D, Thellier M. Youyou Tu, de Mao Zedong au Prix Nobel de Médecine 2015 : William C. Campbell, Satoshi Ōmura et Youyou Tu. médecine /sciences. janv 2016 ; 32 (1) :106-9. 2016;32(1):106-9. DOI: 10.1051/medsci/20163201017.
11. Fairhurst RM. – Understanding artemisinin resistant malaria: what a difference a year makes. Curr Opin Infect Dis. oct 2015; 28 (5): 417-25. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000199.
12. OMS – Paludisme le 29 mars 2023 [cité le 11 février 2022]. Disponible : <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria>.
13. Soni R, Shankar G, Mukhopadhyay P, Gupta V. – A concise review on *Artemisia annua* L.: A major source of diverse medicinal compounds. Ind Crops Prod. sept 2022; 184: 115072. DOI: 10.1016/j.indcrop.2022.115072.
14. Tu Y. – De *Artemisia annua* L. aux artémisinines : La découverte et le développement des artémisinines et des agents antipaludiques Ed. 1 [Internet]. EDP Sciences ; 2019 Disponible sur : <http://univ.scholarvox.com/book/88876433> [cité le 24 juin 2022].

15. V, Lady. – Culture Générale : Un essai clinique d'évaluation de l'Artésunate, en Arabie Séoudite, l'Artemisia, (annua), une Plante médicinale d'Avenir dans le COVID-19 [cité le 8 avril 2022]. Disponible : <https://ladyvanessa.over-blog.com/2020/07/l-artemisia-annuelle-ou-vulgaire-une-plante-medicinale-d-avenir-film.html>.
16. Jianfang Z. – A Detailed Chronological Record of Project 523 and the Discovery and Development of Qinghaosu (Artemisinin). Strategic Book Publishing; 2013.
17. Miller LH, Su X. – Artemisinin: Discovery from the Chinese Herbal Garden. Cell. 2011;146(6):855-8. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.024.
18. Chin Med J – Antimalaria studies on Qinghaosu. déc 1979;92(12):811-6.
19. Klayman DL. – Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. Science. 1985;228(4703):1049-55. DOI: 10.1126/science.3887571.
20. Jiang JB, Guo XB, Li GQ, Cheung Kong Y, Arnold K – The Lancet: Antimalarial activity of mefloquine and Quinghaosu. 1982;320(8293):285-8. DOI: 10.1016/S0140-6736(82)90268-9.
21. Lee BJ, Weyers M, Haynes RK, van der Kooy F. – Discovery of artemisinin in *Artemisia annua*, its current production, and relevance to sub-Saharan Africa. [févr 2023]; 153: 21-7. 2023;153:21-7. DOI: 10.1016/j.sajb.2022.12.017.
22. Pirard C, Leonard O, Plum PE, Struvay S, Moutschen M – Les dérivés combinés de l'artémisinine : Une avancée thérapeutique dans le contrôle du paludisme non compliqué à *Plasmodium falciparum*. Juillet 2020;75(5-6):273-275.
23. VIDAL – Pipéraquine : substance active à effet thérapeutique. Disponible : <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/piperaquine-23468.html>.
24. M. T. H. Khan – Bioactive Heterocycles III. Topics in Heterocyclic Chemistry Series, Vol.9 [cité le 16 juillet 2022]. Disponible : <http://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-73402-4>.
25. Pharmacomédicale – Artemether. [cité le 22 septembre 2022]. Disponible : <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/artemether>.
26. Inventaire National du Patrimoine Naturel – Armoise annuelle : *Artemisia annua* L., 1753. [cité le 25 juillet 2022]. Disponible : https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/83938.
27. World Health Organization. WHO – Monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua* L. 2006;49.
28. Liu C zhao, Guo C, Wang Y chun, Ouyang F. – Effect of light irradiation on hairy root growth and artemisinin biosynthesis of *Artemisia annua* L. Process Biochem. déc 2002;38(4):581-5. DOI: 10.1016/S0032-9592(02)00165-6.
29. ICAR – Directorate of medicinal and aromatic plants research: Cultivation of Artemisia. January 2014, Amand Press.

30. M. Onimus, J-M Vouillot, G. Clerc – Artemisia contre le paludisme. [cité le 29 juillet 2022]. Disponible : <https://www.acp-paludisme.info/articles/>.
31. Segura V. – Génétique et amélioration d'*Artemisia annua* L. pour une production durable d'antipaludiques à base d'artémisinine. médecine/sciences. août 2010;26(8-9):701-3. DOI: 10.1051/medsci/2010268-9701.
32. OMS – Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) [En ligne]. [cité le 29 septembre 2022]. Disponible sur : <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42869/9242546275-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
33. Ferreira JFS, Laughlin JC, Delabays N, de Magalhães PM. – Cultivation and genetics of *Artemisia annua* L. for increased production of the antimalarial artemisinin. Plant Genet Resour. août 2005;3(2):206-29. DOI: 10.1079/PGR200585.
34. La maison de l'Artemisia – Manuel de Culture et Transformation de l'Artemisia 2020. [En ligne]. Disponible sur : https://maison-artemisia.org/wp-content/uploads/2020/12/Manuel_Culture_et_Transformation_Artemisia_2020.pdf. [cité le 22 septembre 2022].
35. Artemisia Contre le paludisme – Promouvoir les antipaludéens naturels. [cité le 29 juillet 2022]. Disponible sur : <https://www.acp-paludisme.info/articles/>.
36. ANAMED – La culture d'*Artemisia annua* : la récolte. [cité le 22 septembre 2022]. Disponible : <http://1ruche3pintades.over-blog.com/2018/03/la-culture-d-artemisia-annua-la-recolte-3.html>.
37. Brown GD. – The Biosynthesis of Artemisinin (Qinghaosu) and the Phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao). Molecules. 28 oct 2010;15(11):7603-98. DOI: 10.3390/molecules15117603.
38. Blanc B., Weniger B., Nicolas J.-P. – Réflexions autour de la culture *Artemisia annua* et de la production d'artémisinine. Ethnopharmacologia, n°41, juin 2008.
39. Schauenberg P, Paris F. – Guide des plantes médicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2e édition augmentée et complétée. Paris : Delachaux et Niestlé ; 2005).
40. Ferreira JFS, Luthria DL. – Drying Affects Artemisinin, Dihydroartemisinic Acid, Artemisinic Acid, and the Antioxidant Capacity of *Artemisia annua* L. Leaves. J Agric Food Chem. 10 févr 2010;58(3):1691-8. DOI: 10.1021/jf903222j.
41. PATH – Sanofi and PATH announce the launch of large-scale production of semisynthetic artemisinin against malaria. [cité le 21 février 2023]. Disponible : <https://www.path.org/media-center/sanofi-and-path-announce-the-launch-of-large-scale-production-of-semisynthetic-artemisinin-against-malaria/>.
42. Société Chimique de France (SCF) – Sanofi : Artémisinine semi-synthétique. Disponible : <https://new.societechimiquedefrance.fr/distinctions/lartemisinine-est-le-produit-de-base-a-partir-duquel-sont-fabriques-les-acts-artemisinincombinationtherapies-medicaments-destines-a-combattre-le-paludisme-elle-est-habituellement-extraite-d/>.

43. Mueller MS, Karhagomba IB, Hirt HM, Wemakor E. – The potential of *Artemisia annua* L. as a locally produced remedy for malaria in the tropics: agricultural, chemical, and clinical aspects. *J Ethnopharmacol.* 1 déc 2000;73(3):487-93. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00289-0.
44. Hien TT. – An overview of the clinical use of artemisinin and its derivatives in the treatment of *falciparum* malaria in Viet Nam. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* juin 1994;88:7-8. DOI: 10.1016/0035-9203(94)90461-8.
45. Alin MH, Björkman A, Ashton M. – In vitro activity of artemisinin, its derivatives, and pyronaridine against different strains of *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* sept 1990;84(5):635-7. DOI: 10.1016/0035-9203(90)90129-3.
46. Alin MH, Bjorkman A. – Concentration and Time Dependency of Artemisinin Efficacy Against *Plasmodium falciparum* in Vitro. *Am J Trop Med Hyg.* 1 juin 1994;50(6):771-6. DOI: 10.4269/ajtmh.1994.50.771.
47. F. Ter Kuile, N.J White, P. Holloway, G. Pasvol, S. Krishna – *Plasmodium falciparum*: In vitro studies of the pharmacodynamic properties of drugs used for the treatment of severe malaria.pdf. DOI: 10.1006/expr.1993.1010.
48. Elford BC, Roberts MF, Phillipson JD, Wilson RJM. – Potentiation of the antimalarial activity of qinghaosu by methoxylated flavones. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* janv 1987;81(3):434-6. DOI: 10.1016/0035-9203(87)90161-1.
49. Carbonara T, Pascale R, Argentieri MP, Papadia P, Fanizzi FP, Villanova L, et al. – Phytochemical analysis of a herbal tea from *Artemisia annua* L. *J Pharm Biomed Anal.* 25 mars 2012;62:79-86. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.01.015.
50. Bull Académie Natl Médecine – Proposition d'un traitement du paludisme par des feuilles d'Artemisia. Mai 2019;203(3-4):122-3. DOI: 10.1016/j.banm.2019.04.004.
51. France 24 – Malaria business : les laboratoires contre la médecine naturelle ? [En ligne]. 2019 [cité le 22 janvier 2023]. Vidéo : 39:26 min. Disponible: <https://www.youtube.com/watch?v=W6TgP5RlsDQ>.
52. Africatrek – Accueil. [En ligne]. [cité le 22 janvier 2023]. Disponible : <https://africatrek.com/>.
53. La Maison de l'Artemisia – Cette plante peut sauver des millions de vie [Internet]. [cité le 22 janvier 2023]. Disponible : <https://maison-artemisia.org/l-association/>.
54. WHO – Évaluation et surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué. [En ligne]. [cité le 4 février 2023]. Disponible sur: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68595/WHO_HTM_RBM_2003.50_fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

55. Gebeyaw T., Yigzaw K., Tegbar Y. – Use of the plant *Artemisia annua* as a natural anti-malarial herb in arbaminch town. [cité le 8 janvier 2023]. Ethip. J. Health Biomed Sci, 2010. Vol.2, No.2.
56. Ogwang P, Ogwal J, Kasasa S, Olila D, Ejobi F, Kabasa D, et al. – *Artemisia Annua L.* Infusion Consumed Once a Week Reduces Risk of Multiple Episodes of Malaria: A Randomised Trial in a Ugandan Community. Trop J Pharm Res. 10 oct 2012;11(3):445-53. DOI: 10.4314/tjpr.v11i3.14.
57. Turrini F, Ginsburg H, Bussolino F, Pescarmona GP, Serra MV, Arese P. – Phagocytosis of *Plasmodium falciparum* - Infected Human Red Blood Cells by Human Monocytes: Involvement of Immune and Nonimmune Determinants and Dependence on Parasite Developmental Stage. Blood. 1 août 1992;80(3):801-8.. DOI: 10.1182/blood.V80.3.801.801.
58. Chougouo Kengne et al (2012) – Étude comparative de l'efficacité in vivo de l'artésunate seule, en association avec l'amodiaquine et de la tisane *Artemisia annua* cultivée à l'Ouest du Cameroun dans le district de santé de Bangangt. [En ligne].
59. Zime-Diawara H, Sissinto-Savi de Tove Y, Akogbeto O, Ogouyemi-Hounto A, Gbaguidi F, Kinde-Gazard D, et al. – Étude de l'efficacité et de la tolérance d'une tisane à base de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) cultivée au Bénin pour la prise en charge du paludisme simple. Int J Biol Chem Sci. 22 juill 2015;9(2):692. DOI: 10.4314/ijbcs.v9i2.10.
60. OMS – Rapport annuel Bénin 2020 [En ligne]. Disponible : https://www.afro.who.int/sites/default/files/2021-08/RAPPORT%20ANNUEL%20OMS%20BENIN%202020%20Final_0.pdf.
61. HAS – Évaluation des actes de diagnostic biologique des infections à *Plasmodium*.2016;104. [En ligne].
62. Munyangi J, Cornet-Vernet L, Idumbo M, Lu C, Lutgen P, Perronne C, et al. – *Artemisia annua* and *Artemisia afra* tea infusions vs. artesunate-amodiaquine (ASAQ) in treating *Plasmodium falciparum* malaria in a large scale, double blind, randomized clinical trial. Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm. avr 2019;57:49-56.DOI: 10.1016/j.phymed.2018.12.002.
63. Mueller MS, Runyambo N, Wagner I, Borrmann S, Dietz K, Heide L. – Randomized controlled trial of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (Annual Wormwood) in the treatment of malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg. mai 2004;98(5):318-21. DOI: 10.1016/j.trstmh.2003.09.001.
64. Christoph H Blanke, Filleul B Naisabha, Markus S Müller – Préparation de thé Herba *Artemisia annua* comparée à la sulfadoxine-pyriméthamine dans le traitement du paludisme à *falciparum* non compliqué chez l'adulte : un essai clinique randomisé en double aveugle [Internet]. [cité le 10 janvier 2023]. Disponible: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1258/td.2007.060184>.

65. B. Pradines, J. Dormoi, S. Briolant, H. Bogreau, C. Rogier – La résistance aux antipaludiques [cité le 4 février 2023]. Disponible : <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1773035X10705104?token=0962DB48CB3824097B5AE7D740D4113350B1AB7A27F248EDB5B3481DD2D326D75B9585B1691AED843AD400975FE45858&originRegion=eu-west-1&originCreation=20230204091643>.
66. Magalhães PM de, Figueira GM, Souza JM de, Ventura AMR, Ohnishi MD de O, Silva DR da, et al. – *Artemisia annua*: A New Version of a Traditional Tea under Randomized, Controlled Clinical Trial for the Treatment of Malaria. *Adv Biosci Biotechnol*. 2016;07(12):545-63. [En ligne]. [cité le 4 février 2023].
67. Argemi X., Houze S., Noel Harold., Broca O., Chidiac C., Rapp C. – Imported *Plasmodium falciparum* malaria following non-pharmaceutical forms of *Artemisia annua* prophylaxis. [cité le 10 janvier 2023]. *J. Travel Med*. 2019 Dec23;26(8):taz073. DOI: 10.1093/jtm/taz073.
68. Doumbo O, Fall IS, Niaré DS. – Paludisme : espoir d'un contrôle efficace en Afrique, vers l'élimination du paludisme. 1 mars 2016;200(3):453-66. DOI: 10.1016/S0001-4079(19)30723-X
69. La libre Belgique – « Le palu, on vit avec au quotidien », jeudi 25 avril 2019.
70. Heide L, Räth K, Gleiter CH, Taxis K, Li SM, Walz G. – Pharmacokinetic of artemisinin after oral intake of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (Annual Wormwood). *Am J Trop Med Hyg*. 1 févr 2004;70(2):128-32. DOI: 10.4269/ajtmh.2004.70.128.
71. OMS – Utilisation des formes non pharmaceutiques d'Artemisia. [En ligne]. Disponible : <https://www.who.int/fr/publications-detail/the-use-of-non-pharmaceutical-forms-of-artemisia>.
72. Légifrance – Décision du 22 avril 2015 portant suspension de la mise sur le marché, à titre gratuit ou onéreux, de la distribution, de la fabrication, de la détention en vue de la vente ou de la distribution à titre gratuit, de l'importation, de l'exportation, de la publicité du produit dénommé Artémisia de la société EXSENCE-OGNOPS. DOI: 10.1016/j.banm.2019.04.004.

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) **LENAIN Julia**

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : **21500018**

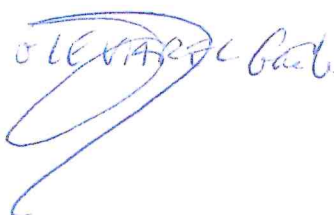
N° Thèse : **99**

Nom et Prénom : **LENAIN Julia**

Sujet : **Les tisanes d'armoise annuelle constituent-elles le produit
miracle pour soigner le paludisme ?**

Tours, le : **17 / 11 / 2023**

Le(s) Directeur(s) de Thèse :



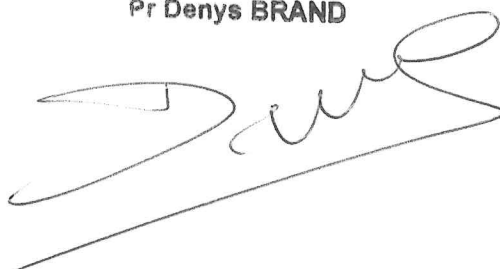
Pr Guillaume DESOUBEUX
PU-PH

Vu et Transmis :

Le Doyen

Le directeur de la Faculté
des Sciences Pharmaceutiques

Pr Denys BRAND



LENAIN JULIA	N°99
TITRE DE LA THÈSE <i>LES TISANES D'ARMOISE ANNUELLE CONSTITUENT-ELLES LE PRODUIT MIRACLE POUR SOIGNER LE PALUDISME ?</i>	
RÉSUMÉ DE LA THÈSE Considéré comme un problème de santé publique, le paludisme constitue de nos jours la première parasitose mondiale, en termes d'incidence. La dangerosité de cette maladie découle d'un ensemble de mécanismes physiopathologiques complexes et encore souvent mal décrits. Ces infections graves principalement observées lors de l'infection par <i>Plasmodium falciparum</i> engendrent un taux de mortalité élevé dans les zones endémiques où l'accès aux soins reste restreint, malgré les moyens financiers et humains mis en place depuis quelques années. <i>Artemisia annua</i>, ou plus communément appelée l'armoise annuelle, est une plante asiatique de la famille des Astéracées, utilisée depuis des millénaires en médecine traditionnelle chinoise pour ses propriétés antipyrétiques et antipaludiques. Longtemps oubliée, l'armoise annuelle a été redécouverte durant la guerre du Vietnam grâce à l'un de ses composants, l'artémisinine, qui a révélé de puissantes propriétés antipaludiques. Depuis sa caractérisation, ce produit a joué un rôle capital dans la réduction du nombre de décès liés au paludisme. Parallèlement aux efforts de lutte consentis par la communauté internationale, notamment par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et certains fonds de dotation, est apparu un nouveau mode d'utilisation d'<i>A. annua</i> basé sur l'utilisation de la plante entière sous forme de tisanes. Une communication massive, exploitant Internet et les réseaux sociaux, tente de positionner les tisanes d'<i>A. annua</i> comme une alternative fiable dans la prévention et le traitement du paludisme, s'appuyant notamment sur des études scientifiques montrant une efficacité supérieure des tisanes par rapport aux traitements conventionnels. Cependant, un bon nombre de ces essais souffrent de lacunes méthodologiques rendant leurs conclusions scientifiques caduques. En 2015, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) a suspendu la mise sur le marché de produits à base d'<i>Artemisia annua</i> pour la prévention et le traitement du paludisme. Dans ce travail de thèse, l'ensemble des études abordant le sujet des tisanes à base d'<i>A. annua</i> seront détaillées et analysées afin de comprendre le positionnement des autorités de santé.	
MOTS-CLÉS : <i>Artemisia</i>, Artémisinine, Infusion, Paludisme, Phytothérapie	
JURY PRÉSIDENT : Pr DIMIER-POISSON Isabelle – Professeur des Universités, Faculté de pharmacie de Tours MEMBRES : Pr DESOUBEAUX Guillaume – Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Service parasitologie au CHU de Tours Dr GLEVAREC Gaëlle – Pharmacien, Maître de Conférence, Faculté de pharmacie de Tours Dr JUSSEAUME Delphine – Pharmacien Titulaire d'Officine, à Tours	
DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : Le vendredi 17 novembre 2023, à la Faculté de pharmacie de Tours.	