



Etude 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

Hermine ZIME-DIAWARA^{1,3,4*}, Yolande SISSINTO-SAVI de TOVE²,
Oscar Eric AKOGBETO^{1,2}, Aurore OGOUYEMI-HOUNTO², Fernand A. GBAGUIDI¹,
Dorothee KINDE-GAZARD², Achille MASSOUGBODJI², André BIGOT⁵,
Brice SINSIN⁶, Joëlle QUETIN-LECLERCQ³, Brigitte EVRARD⁴ et
Mansourou MOUDACHIROU¹

¹Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles, Faculté des Sciences de la Santé,
Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 188 Cotonou, Bénin.

²Laboratoire de Biologie Moléculaire du Centre de Lutte Intégrée Contre le Paludisme,
Unité d'Etude et de Recherche en Parasitologie-Mycologie, Faculté des Sciences de la Santé,
Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 188 Cotonou, Bénin.

³Laboratoire de Pharmacognosie, Unité CHAM, Louvain Drug Research Institute (LDRI),
Université catholique de Louvain, Av. E. Mounier 72, Bte 7230, 1200 Bruxelles, Belgique.

⁴Laboratoire de Technologie Pharmaceutique et Biopharmacie, Département de Pharmacie,
CIRM, Université de Liège, CHU B36 – 4000 Liège, Belgique.

⁵Laboratoire d'Immunologie, Faculté des Sciences de la Santé,
Université d'Abomey Calavi, 01 BP 188 Cotonou, Bénin.

⁶Laboratoire d'Ecologie Appliquée, Faculté des Sciences Agronomiques,
Université d'Abomey Calavi, 03 BP 1974 Cotonou, Bénin.

*Corresponding author, E-mail: zimegani@yahoo.fr, Tél: 21309077 - Fax: 21309077.

RESUME

Artemisia annua L. est une plante annuelle, glabre, de la famille des Asteraceae et originaire de la Chine. Cette plante contient plusieurs sesquiterpènes dont l'artémisinine (0,01% à 1,4% du poids des feuilles sèches) et d'autres composés comme les flavonoïdes, les coumarines, les triterpènes, les stéroïdes, les composés phénoliques, les purines, les lipides et les composés aliphatiques. Cette plante a été acclimatée et cultivée au Bénin. Elle a ensuite été testée pour la prise en charge du paludisme simple par un essai clinique. La concentration en artémisinine de cette plante était d'environ 0,30%. Il ressort de notre étude que la tisane de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) obtenue au Bénin a une capacité d'action sur *Plasmodium falciparum* avec un taux d'efficacité supérieur à 95%, taux retenu par l'OMS pour valider un traitement.

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Malaria, *Artemisia annua*, clairance thermique, parasitémie, essais cliniques.

INTRODUCTION

Le paludisme, l'une des principales maladies endémo-parasitaires, touche la

majeure partie de l'Afrique avec les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans qui sont les plus touchés (Aris, 2000). Il existe de

nombreux traitements mais l'accessibilité par les populations est difficile.

En Afrique, 80% des populations ayant recours à la médecine traditionnelle, la recherche et l'investigation dans le domaine des plantes reste primordiale. Plusieurs plantes sont ainsi reconnues scientifiquement pour leur pouvoir antipaludique et c'est également le cas de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) (Mueller et al., 2000).

Artemisia annua L. est une plante d'origine asiatique dont le nom chinois est « Qin ghao », ce qui signifie littéralement « herbe verte ». Cette espèce renferme de l'artémisinine (0,01 à 1,4%) dans ses feuilles (Ferreira et al., 1997). L'artémisinine a été isolée pour la première fois en 1972 en Chine (Allahdin et al., 2008). *Artemisia annua* est pratiquement la seule source naturelle d'artémisinine car cette substance n'a été retrouvée qu'en infimes quantités dans deux autres espèces : *Artemisia opiacea* et *Artemisia lancea* (Tan et al., 1998). L'artémisinine est actuellement, avec ses dérivés hémisynthétiques, la molécule la plus efficace avec une action rapide et foudroyante contre le paludisme, même dans sa forme compliquée et aussi contre les formes chloroquino-résistantes (De Vries et Dien., 1996). En plus de l'artémisinine, cette espèce renferme d'autres composés comme les flavonoïdes, les coumarines, les triterpènes, les stéroïdes, les composés phénoliques, les purines, les lipides et les composés aliphatiques (Bhakuni et al., 2002).

Artemisia annua est utilisée depuis 2000 ans en Chine pour traiter les états fébriles et elle est reprise dans la pharmacopée chinoise (Pharmacopée chinoise, 1992).

Au cours du présent travail, notre équipe de recherche a donc mis en culture cette plante au Bénin, comme cela avait déjà été fait dans plusieurs autres pays d'Europe, d'Amérique et d'Afrique où nous pouvons citer : le Congo, le Kenya, le Burkina Faso, le Cameroun, le Madagascar. L'étude de l'efficacité antipaludique et de la tolérance de la tisane obtenue avec les plants récoltés a ainsi pu être réalisée afin de permettre la mise à disposition d'un produit à base de plantes accessible financièrement et dont l'efficacité

est prouvée scientifiquement. L'effectivité d'un tel traitement soulagerait un grand nombre de malades dans nos pays où le paludisme continue de faire des ravages.

MATERIEL ET METHODES

Méthodes d'étude

Cadre et période d'étude

L'étude s'est déroulée sur une période de six mois dans la ville de Cotonou au Bénin.

Procédures éthiques

Le présent essai clinique a été réalisé après obtention de l'accord du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et du comité d'éthique du CHU de l'Université de Liège. Mentionnons également qu'une assurance a été souscrite par l'équipe de recherche afin de pallier aux risques possibles liés à cette étude.

Tous les patients ont été avertis des risques éventuels et ont donné leur accord par écrit avec la mention « lu et approuvé ». Ils étaient avertis qu'ils sont libres de se retirer de l'essai clinique.

Population d'étude

L'essai clinique a porté sur des patients âgées de 10 ans et plus venus en consultation à l'hôpital Saint Luc, au Centre Médical Saint Jean, à l'hôpital de zone Suru Léré, au Centre de Santé d'Akpro Misséréte ou dépistés à Vossa et à Towéta présentant des signes cliniques évocateurs d'un paludisme.

Les critères d'inclusion étaient les suivants : l'âge (10 ans et plus) ; le poids corporel (20 kg et plus) ; le sexe (hommes et femmes) ; le diagnostic de paludisme confirmé par une goutte épaisse positive avec parasitémie ≥ 1000 parasites/ μ l et une température corporelle $\geq 37,5$ °C ; les patients capables de prendre le médicament per os ; l'absence d'autres maladies graves ; les patients ou parents d'enfants ayant donné leur consentement par écrit.

Les critères d'exclusion de l'étude concernaient : la présence de signes d'atteinte grave de l'état général (incapacité de boire ou de manger, vomissement plus de deux fois par jour, dernier vomissement datant de moins de 24 h, état d'inconscience du malade,

incapacité à rester assis ou debout); les patientes en état de grossesse; les patients présentant une hypersensibilité ou allergie aux dérivés de l'artémisinine; l'utilisation d'un autre traitement antipaludique dans les 20 jours précédents; les patients ayant un bilan biologique perturbé.

Tout patient inclus dans l'essai clinique était pris en charge intégralement et gratuitement pendant la durée de l'étude.

Le médicament de l'étude

Le traitement administré était la tisane de *Artemisia annua* L. cultivée au Bénin. Les feuilles séchées provenaient de la ferme de la FSA de l'UAC au Bénin. Les techniques de culture dans ce nouvel environnement ont été étudiées dans les travaux de Sounon et al. (2009). Ces feuilles ont été conditionnées dans des emballages avec des indications sur la dose à utiliser (12 g/litre pendant 7 jours) et le mode de préparation. La concentration en artémisinine de nos plantes était d'environ 0,30%. Les quantifications ont été réalisées à l'aide de méthodes validées lors d'études antérieures (Zimé-Diawara et al., 2011).

L'infusion était préparée chaque jour par l'équipe médicale en versant un litre d'eau bouillante sur les feuilles dans un récipient en aluminium sans recouvrir ce récipient. On laissait reposer 15 minutes puis une filtration était réalisée. Les malades consomment la tisane par 4 doses de 250 ml (ou 125 ml chez les enfants de 10 à 13 ans) au cours des 24 heures sans réchauffer la tisane; soit environ 36 mg d'artémisinine par jour chez les adultes et 18 mg d'artémisinine chez les malades ayant entre 10 et 13 ans. Les patients étaient surveillés après la prise pour vérifier l'apparition des vomissements afin de remplacer la dose entière.

Surveillance des malades

Une surveillance régulière de chaque patient résumée par le Tableau 1 a été faite dès l'inclusion (J_0) jusqu'à J_{28} .

La surveillance effectuée était à la fois clinique et biologique. Les indicateurs étudiés ont été la défervescence thermique et la clairance thermique; la clairance parasitaire et l'apparition d'effets secondaires cliniques ou

de résultats biologiques anormaux lors du traitement. Un examen physique complet a été réalisé tous les jours de J_0 à J_3 en hospitalisation puis en ambulatoires à J_{14} , J_{21} , et J_{28} en milieu hospitalier.

Des échantillons ont été collectés sur papier filtre pour le test PCR aux jours 0, 7, 14, 21 et 28 et également le jour où une recrudescence est notée. L'analyse PCR a été réalisée en cas d'échec thérapeutique ou en cas d'échec parasitologique précoce ou tardif. Pour ce faire, une analyse des confettis après extraction de l'ADN parasitaire et migration sur gel d'agarose des produits des amorces a été faite.

Gestion des données et analyse statistique

Les données recueillies (renseignements cliniques et biologiques) étaient saisies avec le logiciel SPSS version 17.0. Elles sont analysées grâce au logiciel STATA version 11.0

RESULTATS

Description de l'échantillon

Au cours de l'essai préclinique, un total de 130 patients ont eu une goutte épaisse positive supérieure ou égale à 1000 parasites par microlitre. Ils ont donc été inclus dans l'étude et ont bénéficié du traitement. Sur ces 130 personnes, 108 ont suivi le traitement en intégralité et ont honoré rigoureusement les rendez-vous définis. Tous ces malades sont nés et vivent en zone d'endémie au Bénin.

L'échantillon était constitué de 53,7% de femmes contre 46,3% d'hommes. Le sexe ratio de l'était donc de 1,16 en faveur des femmes. Le poids moyen des malades était de 58,75 kg ($\pm 3,67$) et la taille moyenne 1,54 m ($\pm 0,41$).

Caractéristiques cliniques à l'inclusion

La Figure 1 montre la fréquence des symptômes observés chez les malades à l'inclusion.

Les symptômes le plus fréquemment retrouvés étaient: la fièvre, les céphalées, l'asthénie et les vomissements; plus rarement des nausées et de l'ictère. Au niveau des constantes vitales, une température moyenne

de 38,24 °C ($\pm 0,23$), une pression artérielle systolique moyenne : 11,33 ($\pm 0,24$), la diastolique : 7,52 ($\pm 0,26$) et le pouls moyen de 80,12 ($\pm 1,9$) ont été notés

Caractéristiques biologiques à l'inclusion

A l'inclusion, la parasitémie la plus faible était de 1000 hématies parasitées par mm^3 (HP/ mm^3) et la plus élevée était de 65300 hématies parasitées par mm^3 , plus de la moitié des malades avaient une parasitémie au moins égale à 1874 hématies parasitées par mm^3 , la moyenne de la parasitémie chez les malades était de 4940,34 hématies parasitées par mm^3 ($\pm 1928,74$).

Le bilan hématologique, biochimique, hépatique et rénal des patients à l'inclusion est repris par les Tableaux 2 et 3 (Prélèvement à J_0).

Le taux d'hémoglobine le plus bas était de 7,60 d/dl et le plus élevé de 16,90 g/dl avec une moyenne de 12, 03 \pm 0,31 g/dl. La remarque faite est qu'un malade sur dix était anémié à l'inclusion. Par ailleurs, plus de la moitié des malades avaient un taux d'ASAT d'au moins 20 UI/l et plus de la moitié des malades avaient un taux d'ALAT d'au moins 18 UI/l. A l'inclusion, plus de la moitié des malades avaient une créatinémie d'au moins 8 g/l.

Evaluation de l'efficacité de la tisane

L'efficacité de la tisane a été appréciée sur le plan clinique puis parasitologique.

Evaluation clinique

Elle est basée sur la défervescence thermique et la clairance thermique et la disparition des symptômes.

Tous les 108 patients de l'échantillon présentaient une température supérieure ou égale à 37,5 °C. La Figure 2 montre l'évolution de leur température moyenne dans le temps. L'analyse de ce graphique a révélé une baisse de température au cours du traitement. On note une baisse significative de

la température déjà 12 h après la prise de la première dose ($p < 0,0011$). La température a ensuite chuté significativement de 12 h à 48 h ($p < 0,011$). A partir de 48 h, la température des patients s'est stabilisée à 37 °C.

La clairance thermique a été déterminée par rapport aux 108 patients fébriles à l'inclusion. Le délai d'obtention d'une apyrexie (température axillaire $\leq 37,5$ °C) complète et durable en l'absence d'une pathologie infectieuse associée a été pris en compte. D'après la présente étude, 65,7% des patients tombaient en apyrexie 12 h après la première dose de la tisane, puis ce taux passe à 81,5% après 24 h pour atteindre 100% d'apyrexie 72 h après le début du traitement. La Figure 3 montre l'évolution de la fréquence des symptômes chez les malades au cours du traitement. On peut y noter une régression des symptômes dès le 2ème jour du traitement avec disparition après 3 jours de traitement.

Evolution de la parasitémie

L'évolution de la parasitémie est représentée par la Figure 4. A l'inclusion, la parasitémie moyenne était d'environ 4940 HP/ mm^3 . Elle passe à 800 HP/ mm^3 à J_1 et à moins de 100 HP/ mm^3 à J_2 pour s'annuler à J_3 . On note donc une baisse hautement significative de la parasitémie (98%) dès 24 heures après la première prise de la tisane ($p < 0,0011$). La parasitémie va ensuite continuer à chuter à J_2 ($p < 0,0011$) pour finalement s'annuler entre J_2 et J_3 .

Clairance parasitaire

Elle est représentée par le pourcentage de patients ayant une parasitémie négative dans les meilleurs délais. La clairance parasitaire dans cette étude est atteinte entre J_1 et J_2 , soit environ 36 h après la première dose de la tisane avec 80% de patients ayant une parasitémie nulle.

Evaluation de la tolérance de la tisane

La tolérance a été évaluée sur la base des observations de la surveillance clinique et des résultats des examens biologiques.

Tolérance clinique

Globalement, l'état général des patients était bon après la prise de la tisane. Néanmoins, quelques effets secondaires à type de nausées et de fatigue de faible intensité ont été notés chez deux patients soit 1,8% des patients. Aucune autre manifestation clinique (éruptions cutanées ou de douleurs abdominales) n'a été mise en évidence.

Paramètres hématologiques

- L'hémoglobine : Le suivi du taux d'hémoglobine chez l'ensemble des patients traités montre que ce taux baisse entre J₀ et J₈ et remonte entre J₈ et J₂₈. La baisse du taux d'hémoglobine observée au début du traitement pourrait s'expliquer par le mécanisme d'action de l'artémisinine qui entraîne une hémolyse. L'augmentation puis la normalisation de ce taux pourrait être imputée à l'efficacité de la tisane qui aurait arrêté l'hémolyse. L'effet orexigène de la tisane rapporté par certains malades pourrait être aussi à l'origine de cette normalisation rapide du taux d'hémoglobine.

- On note également une augmentation des érythrocytes dans la même proportion que le taux d'hémoglobine.

- Le nombre de leucocytes est resté quasiment stable pendant toute la durée de l'essai.

- Les plaquettes : la maladie palustre entraînant souvent une thrombopénie, un suivi de l'évolution du taux des plaquettes a été effectué au cours de l'étude. Ainsi, le nombre moyen de plaquettes qui était d'environ 183103/mm³ au départ remonte progressivement au cours du traitement jusqu'à une stabilisation vers 230000/mm³ après le 14^{ème} jour.

Paramètres biochimiques

Le Tableau 3 résume les paramètres biochimiques entre J₀ et J₂₈. Il ressort de ce tableau que : La glycémie ne varie quasiment pas entre le début du traitement jusqu'à la fin du suivi. Le paramètre rénal est représenté par la créatininémie qui est restée quasiment stable du début du traitement jusqu'à la fin du suivi. Les paramètres hépatiques : Il s'agit essentiellement des transaminases : (ASAT et ALAT). Les deux paramètres évoluent de la même manière. On note une augmentation du taux moyen des transaminases généralement entre J₀ et J₇ et une normalisation progressive entre J₈ et J₂₈. Cette augmentation ne dépasse pas les valeurs normales.

Le contrôle de la tension artérielle et du pouls des malades lors de l'examen clinique dès l'inclusion et à chaque rendez-vous a permis de noter qu'il n'y a aucune modification de nature à évoquer une pathologie cardiaque.

La réponse clinique et parasitologique adéquate est de 100% à J₁₄ et à J₂₈.

Résultats des tests d'efficacité

Avant la réalisation de la PCR

Nous n'avons pas observé de cas d'échec thérapeutique précoce ni d'échec parasitologique tardif mais plutôt un cas d'échec clinique tardif à J₂₁.

Le taux de réponse clinique et parasitologique adéquate a été calculé à J₁₄ et à J₂₈. A J₁₄, il est de 100% et à J₂₈, il est de 99,07%.

Après la PCR

L'analyse pour le cas d'échec clinique observé révèle qu'il s'agit d'un nouvel ADN parasite le jour de la recrudescence, ce qui fait penser à une nouvelle infestation parasite détectée dans les isolats de ce malade. La réponse clinique et parasitologique adéquate est de 100% à J₁₄ et à J₂₈ après correction PCR.

Tableau 1: 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 des patients atteints de paludisme simple.

Jour	0	1	2	3	4	5	6	7	8	14	21	28
Histoire médicale	X							X	X	X	X	X
Examens cliniques*	X	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	X
Goutte épaisse*	X	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)	(X)

* = jusqu'à disparition de la parasitémie

(X)= en cas de recrudescence parasitaire

Tableau 2: Evolution des constantes hématologiques entre J₀ et J₂₈.

Paramètres Mesurés	Prélèvement à J ₀	Prélèvement à J ₂₈	p-value
	Moyenne (IC)	Moyenne (IC)	
Hématocrite	37,58 ± 0,9	39,08 ± 0,91	< 0,05
Erythrocytes	4742804 ± 129435	5043177 ± 194248	< 0,05
Leucocytes	5337,66 ± 773,04	5138,6 ± 429,88	NS
Neutrophiles	53,54 ± 2,68	117,36 ± 128,14	< 0,05
Lymphocytes	43,44 ± 2,72	44,21 ± 2,48	NS
Monocytes	1,23 ± 0,21	0,93 ± 0,12	NS
Basophiles	-	-	-
Eosinophiles	1,94 ± 0,2	1,57 ± 0,2	NS
Plaquettes	182686,9 ± 13522	230452,8 ± 13686,8	< 0,05

NS = Non Significatif

Tableau 3 : Evolution des paramètres biochimiques entre J₀ et J₂₈.

Paramètres Mesurés	Prélèvement à J ₀	Prélèvement à J ₂₈	p-value
	Moyenne (IC)	Moyenne (IC)	
Glycémie (g/l)	0,88 ± 0,02	0,88 ± 0,02	NS
Créatininémie (mg/l)	8,37 ± 0,38	7,85 ± 0,39	<0.05
ASAT (UI/l)	24,52 ± 2,32	18,63 ± 1,42	<0.001
ALAT (UI/l)	20,53 ± 2,05	16,44 ± 1,5	<0.001

NS = Non Significatif

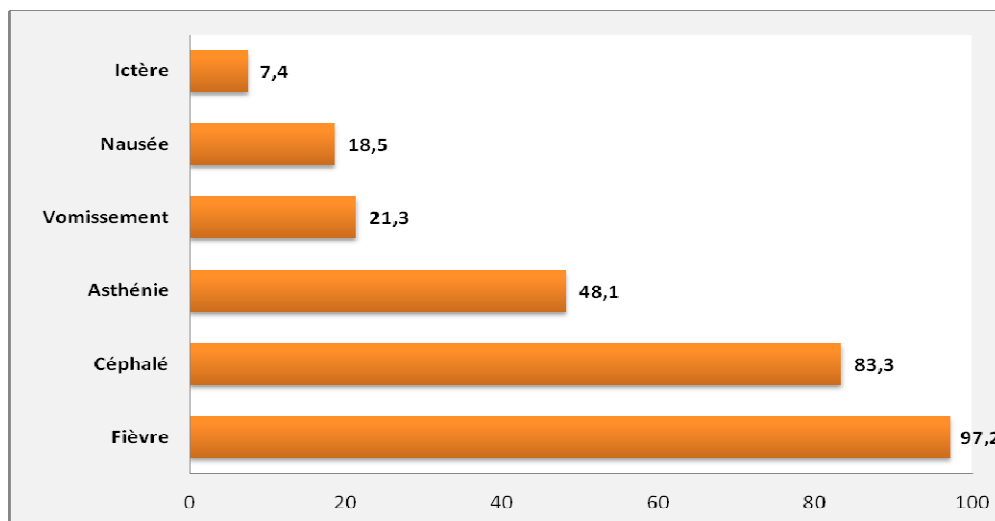


Figure 1 : Fréquence des symptômes observés chez les malades traités par la tisane de *A. annua*.

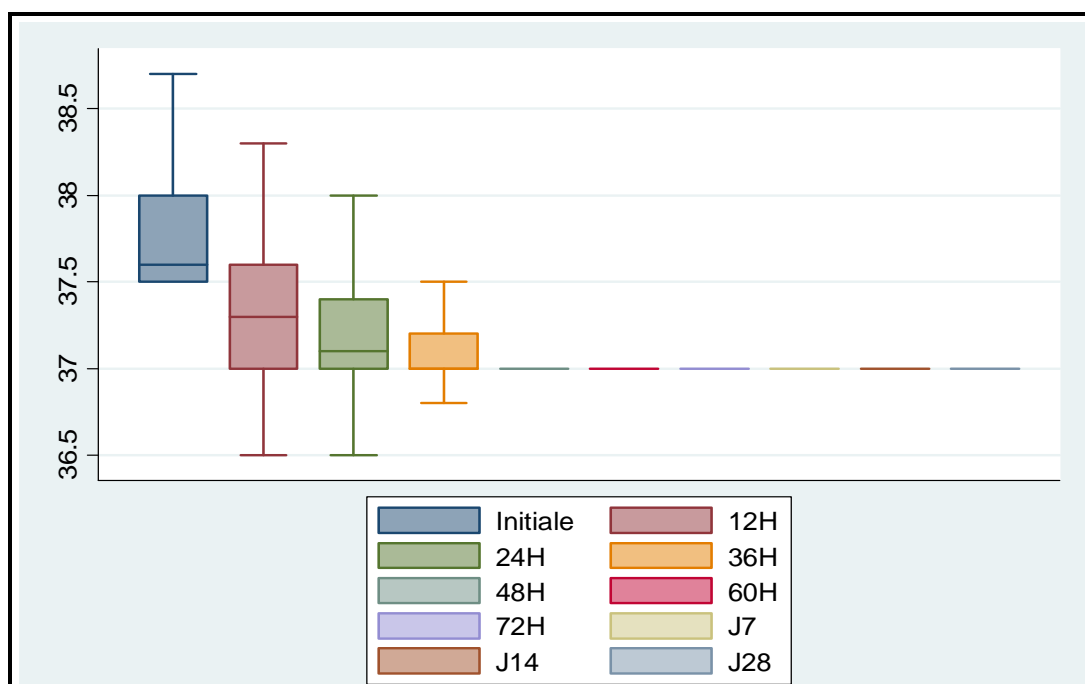


Figure 2 : Evolution de la température corporelle des malades traités par la tisane de *A. annua*.

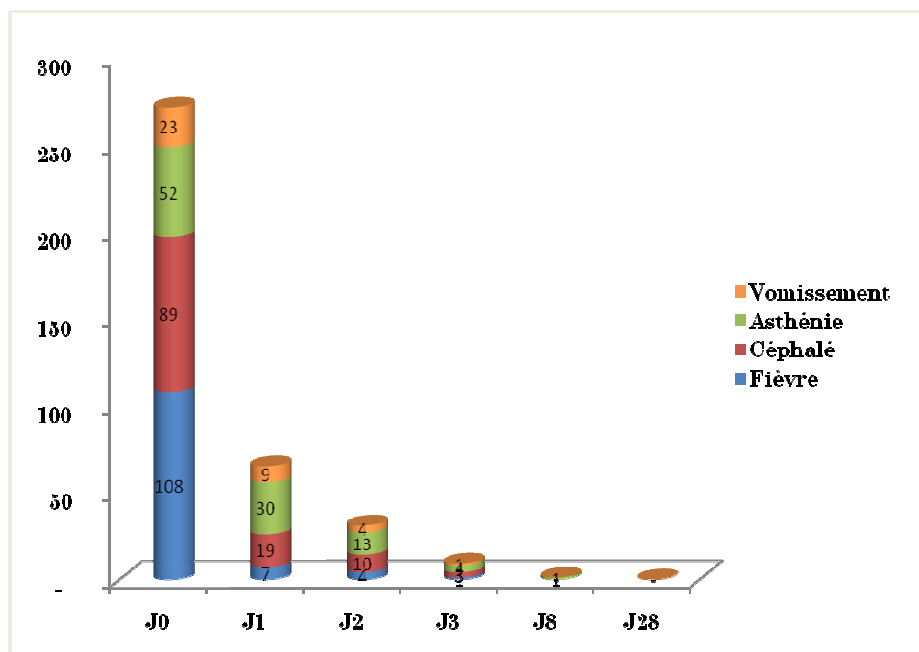


Figure 3: Evolution de la fréquence des symptômes chez les malades au cours du traitement par la tisane de *A. annua*.

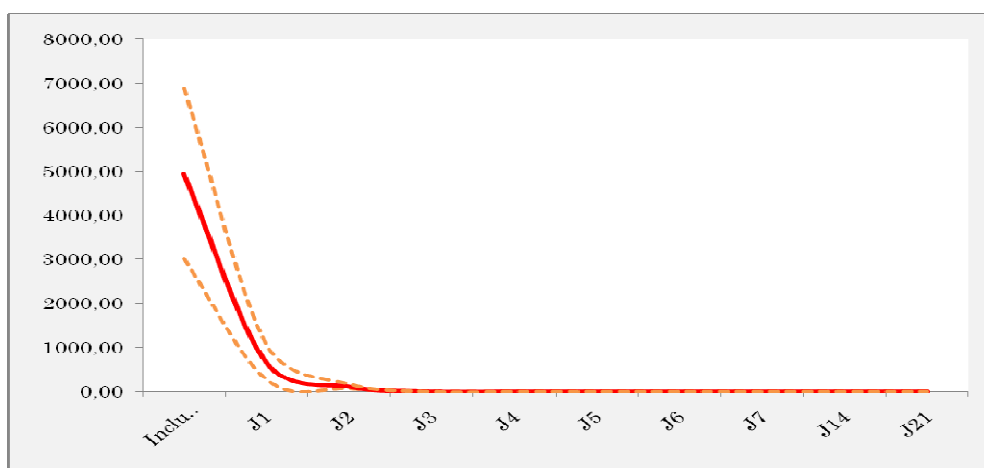


Figure 4: Evolution de la parasitémie des malades traités par la tisane de *A. annua*.

DISCUSSION

Le traitement par la tisane de *Artemisia annua* a montré une nette régression des symptômes 24 heures après la première prise. Tous les malades étant fébriles dès le départ, une baisse significative de la température a été

notée déjà 12 heures après la première prise et nous remarquons l'obtention de la clairance thermique à 36 heures avec 90,1% de malades apyrétiques.

Vingt-quatre heures après la prise de la première dose une baisse significative de la

parasitémie à 98% a été notée suivie d'une disparition totale de la parasitémie vers la 36^{ème} heure.

Très peu d'études cliniques portent sur l'utilisation des extraits ou des préparations traditionnelles de *Artemisia annua*. Les essais cliniques réalisés par Mueller et al. (2004) ont montré que le traitement à la tisane de *Artemisia annua* conduisait à un taux de guérison de 77%. Le traitement de référence dans cette même étude utilisait la quinine (1500 mg/jour) qui donnait un taux de guérison de 91% après 7 jours. Les résultats de la présente étude (100%) avec la plante *Artemisia annua* semblent donc meilleurs à ceux de Mueller et al. (2004). Cela peut s'expliquer par la différence de quantité de plante utilisée (12 g/l dans la présente étude contre 5g/l dans l'étude de Mueller et al. (2004) même si les plants de *Artemisia annua* de la dite étude étaient beaucoup plus riches en artémisinine (1,4%) que ceux utilisés dans la présente étude (0,30%). Ce constat vient appuyer les hypothèses déjà émises par d'autres auteurs (Elford et al., 1987 ; Rath et al., 2000) qui affirment que d'autres composés tels que les flavonoïdes et les autres sesquiterpènes présents dans la plante viennent favoriser l'absorption de l'artémisinine naturelle et aussi potentialiser son activité antipaludique. En effet, la tisane utilisée pour cette étude contient beaucoup plus de feuilles et aurait donc une concentration plus importante dans les autres composés. Il s'agirait notamment des flavonoïdes qui ont montré une action antipaludique intéressante (Liu et al., 1992 ; Bilia et al., 2008) ainsi que des huiles essentielles et autres sesquiterpènes que l'artémisinine qui ont été identifiés par Ramazani et al. (2010) comme ayant un rôle antiplasmodial. *Artemisia annua* serait donc bien une polythérapie, comme plusieurs

auteurs l'avaient déjà évoqué (Bilia et al., 2008 ; Willcox et al., 2009).

La tolérance clinique de la tisane de *Artemisia annua* est bonne avec très peu d'effets secondaires (uniquement deux cas signalés de fatigue et de nausées modérées). Certains malades ont même rapporté un effet d'augmentation de l'appétit suite à la prise de la tisane. La tolérance biologique observée est également bonne car nous obtenons des bilans hématologique, rénal et hépatique normaux pour les patients de l'étude.

Conclusion

Au terme de ces essais cliniques, nous pouvons dire que la tisane à base de *Artemisia annua L.* cultivée au Bénin est efficace sur la malaria causée par *Plasmodium falciparum*. Ainsi, il a été observé une chute importante de la parasitémie (plus de 70% de la charge parasitaire est éliminée dès le premier jour), une efficacité à J₁₄ est de 100% et un taux de guérison parasitaire est 100% à 28 jours. Par ailleurs, les tolérances clinique et biologique sont bonnes et les clairances thermique et parasitaire sont également satisfaisantes.

Ces résultats nous permettent de confirmer l'utilité de la présence des autres composés de *Artemisia annua*, autres que l'artémisinine, dans la réussite du traitement. L'utilisation thérapeutique de l'ensemble de la plante est donc bénéfique. La promotion de son usage en remplacement de l'artémisinine pure qui revient très chère doit être vulgarisée notamment dans les pays où l'accessibilité financière aux médicaments est difficile.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la CUD (Commission Universitaire pour le Développement) pour l'appui financier à la réalisation du présent essai clinique et également tous les techniciens des laboratoires qui ont participé à ce travail. Toute notre

gratitude va aussi à l'équipe du Professeur Brice SINSIN au Laboratoire d'Ecologie Appliquée qui a effectué la culture des plants de *Artemisia annua*.

REFERENCES

- Allahdin O, Gothard-Bassebe MC, Biteman O, Foto E, Mabingui J, Lutgen P. 2008. Essai de désinfection de l'eau de puits par l'*Artemisia annua*. *Rev. Tech. Luxemb.*, **3**: 165-168.
- Aris P. 2000. Malaria, *Nature Biotechnology*, **18**: 111-112.
- Bhakuni RS, Jain DC, Sharma RP, Kumar S. 2002. *Phytochemistry of Artemisia annua and the Development of Artemisinin-Derived Antimalarial Agents in Artemisia* - Wright CW. Ed Taylor & Francis: Londres.
- Bilia AR, Sannella AR, Vincieri FF, Messori L, Casini A, Gabbiani C, Severini C, Majori G. 2008. Antiplasmodial effects of a few selected natural flavonoids and their modulation of artemisinin activity. *Nat. Prod. Commun.*, **3**: 1999-2002.
- De Vries PJ, Dien TK. 1996. Clinical pharmacology and therapeutic potential of artemisinin and its derivatives in the treatment of malaria. *Drugs.*, **52**: 818-836.
- Elford, BC, Roberts MF, Phillipson JD, Wilson RJ. 1987. Potentiation of the antimalarial activity of qinghaosu by methoxylated flavones. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **81**: 434-436.
- Ferreira JFS, Simon JE, Janick J. 1997. *Artemisia annua*: botany, horticulture, pharmacology (a review). *Hortic Rev.*, **19**: 319-371.
- Klayman, DL, Lin AJ, Acton N, Scovill JP, Hoch JM, Michous WK, Theoharidis AD, Dobek AS. 1984. Isolation of artemisinin from *A.annua* growing in the United States. *J. Nat. Prods.*, **47**(4): 715 - 717.
- Liu KC-S, Yang S-L, Roberts ME, Elford BC, Phillipson JD. 1992. Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures. *Plant. Cell. Rep.*, **11**: 637-640.
- Mueller EA, Van Vugt M, Kirch W, Andriano K, Hunt P, De Palacios PI. 2006. Efficacy and safety of the six-dose regiment of artemether-lumefantrine for treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in adolescents and adults: A pooled analysis of individual patient data from randomized clinical trials. *Acta. Trop.*, **1-2**(1000): 41-53.
- Mueller MS, Karhagomba IB, Hirt HM, Wemakor E. 2000. The potential of *Artemisia annua* L. as a locally produced remedy for malaria in the tropics: agricultural, chemical and clinical aspects. *J. Ethnopharmacol.*, **73**: 487-493.
- Mueller MS, Runyambo N, Wagner I, Borrmann S, Dietz K, Heide L. 2004. Randomized controlled trial of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (Annual Wormwood) in the treatment of malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **98**: 318-321.
- Ramazani A, Sardari S, Zakeri S, Vaziri B. 2010. In vitro antiplasmodial and phytochemical study of five *Artemisia* species from Iran and in vivo activity of two species. *Parasitol. Res.*, **107**(3): 593-599.
- Rath K, Taxis K, Waltz G, Gleiter C, Li S-M, Heide L. 2004. Pharmacokinetic study of artemisinin after oral intake of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (Annual Wormwood). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **70**(2): 128-132.
- Sounon M, Glèlè Kakaï R, Avakoudjo J, Assogbadjo AE, Sinsin B. 2009. Tests de germination et de croissance de *Artemisia annua* L. anamed sur différents substrats

- au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **3**(2): 337-346.
- Tan RX, Zheng WF, Tang HQ. 1998. Biologically active substances from the genus *Artemisia*. *Planta Med.*, **64**: 295 – 302.
- WHO. 2006. Monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua L.* WHO.
- Willcox M, Bodeker G, Bourdy G, Dhingra V, Falquet J, Ferreira J, Graz B, Hirt H-M, Hsu E, De Magalhães PM, Provendier D, Wright CW. 2004. *Artemisia annua* as a Traditional Herbal Antimalarial. In *Traditional Medicinal Plants and Malaria*. CRC Press; 43-59.
- Willcox M. 2009. *Artemisia* species: from traditional medicines to modern antimalarials-and back again. *JACM.*, **15**: 101–109.
- Zimé-Diawara H, Gbaguidi F, Evrard B, Quetin-Leclercq J, Moudachirou M, Debrus B, Hubert P, Rozet E. 2011. Validation, transfer and measurement uncertainty estimation of an HPLC-UVmethod for the quantification of artemisinin in hydro alcoholic extracts of *Artemisia annua L.* *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **56**(1): 7-15.