

CYCLINES ET PALUDISME

S. BRIOLANT, L. ALMERAS, T. FUSAI, C. ROGIER, B. PRADINES

Med Trop 2007 ; 67 : 86-96

RÉSUMÉ • L'émergence et la rapide extension de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux différentes molécules antipaludiques limitent progressivement le clinicien dans ses possibilités thérapeutiques en cas d'accès palustre et dans le choix d'une prophylaxie adaptée à chaque voyageur et à sa destination. Dans ce contexte, la doxycycline constitue une molécule intéressante en dehors de ses contre-indications, principalement les enfants de moins de huit ans et les femmes enceintes. Déjà utilisée avec succès dans le traitement des accès palustres simples en association avec la quinine en zone de multi résistances, elle s'avère également efficace et bien tolérée en prophylaxie du paludisme. Aucune résistance à la doxycycline n'a été décrite jusqu'à présent. Les échecs prophylactiques recensés sont liés essentiellement à une mauvaise observance pendant le mois qui suit le retour de la zone endémique. Les mécanismes d'action de la doxycycline sur le parasite ne sont pas complètement élucidés. L'identification des cibles moléculaires de la doxycycline rendrait possible la conception d'analogues structuraux plus actifs et à demi-vie plus longue.

MOTS-CLÉS • Paludisme - Doxycycline - Prophylaxie - Traitement - Antipaludiques - Antibiotiques.

CYCLINES AND MALARIA

ABSTRACT • The emergence and rapid spread of *Plasmodium falciparum* resistance to various antimalarials compounds is gradually reducing the clinician's options for treating malaria and for adapting prophylaxis to each traveler and destination. In this context doxycycline is an increasingly useful alternative except in individuals with contraindications, mainly children under the age of eight and pregnant women. Already used successfully in association with quinine for treatment of malaria in areas with multiresistance, doxycycline has also proven to be effective and well tolerated for prophylaxis of malaria. No resistance to doxycycline has been observed to date. Most reported prophylactic failures have been related to poor compliance during the month following return from the endemic zone. The mechanisms of action of doxycycline on the parasite are still unclear. Identification of the molecular targets of doxycycline would open the way for the design of more active structural analogues with longer half-life.

KEY WORDS • Malaria - Doxycycline - Prophylaxis - Treatment - Antimalarials - Antibiotics.

Le programme global d'éradication du paludisme initié au début des années 1960 par l'Organisation mondiale de la santé s'est soldé par un échec et la situation actuelle reste préoccupante ; près de 40 % de la population mondiale vit en zone d'endémie, 300 à 500 millions de nouvelles infections et 1,5 à 2,7 millions de décès sont à déplorer chaque

année (1). La lutte antivectorielle s'est heurtée à l'apparition de résistances des anophèles aux principaux insecticides employés (2). Les perspectives vaccinales restent limitées par la complexité de la biologie de *Plasmodium falciparum*, sa diversité antigénique et tous les essais cliniques de candidats vaccinaux menés jusqu'alors ne sont pas concluants en terme de protection et de durée d'action (3). La prophylaxie et la chimiothérapie du paludisme demeurent un axe de recherche majeur dans la lutte antipaludique et de nouvelles molécules sont constamment en cours de développement devant l'émergence de souches parasitaires résistantes aux molécules antipaludiques disponibles (4).

La chloroquine introduite dans les années 1940, joua un rôle prépondérant dans la chimioprophylaxie et la thérapie du paludisme. Mais l'extension de la chloroquinorésistance à la quasi-totalité des zones d'endémie palustre en limite aujourd'hui l'utilisation (5). Les mécanismes de résistance de *P. falciparum* et les marqueurs moléculaires qui y sont associés sont actuellement plus ou moins bien documentés pour quelques molécules antipaludiques (6) : la chlo-

- Travail de l'Unité de Recherche en Biologie et Epidémiologie Parasitaires de l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées de Marseille (S.B., Praticien confirmé de recherche en biologie et biochimie des agressions), (L.A., Docteur en Sciences), (T.F. Praticien certifié de recherche en biologie et biochimie des agressions), (C.R. Praticien certifié de recherche en biologie et biochimie des agressions), chef de l'Unité de Recherche en Biologie et Epidémiologie Parasitaires), (B.P., Praticien confirmé de recherche en biologie et biochimie des agressions).
- Correspondance : B. PRADINES, Unité de Recherche en Biologie et Epidémiologie Parasitaires, Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, Bd Charles Livon, BP 46, Le Pharo, 13998 Marseille Armées, France • Fax : (+33) 04 91 15 01 64.
- Courriel : bruno.pradines@free.fr
- Article sollicité.

roquine, la méfloquine, l'halofantrine, le cycloguanil, la pyriméthamine, la sulfadoxine et l'atovaquone. Des cas de résistances à l'artémisinine et ses dérivés utilisés en association dans la thérapie des accès palustres sont déjà décrits (7) et des isolats présentent *in vitro* des sensibilités diminuées à l'artéméter (8, 9) et à l'artésunate (10). L'introduction récente de la Malarone® (association atovaquone-proguanil) dans la chimioprophylaxie du paludisme est déjà victime de l'apparition de résistances même limitées (11). Certains antibiotiques sont également utilisés dans le traitement ou la chimioprophylaxie du paludisme. Les macrolides et en particulier l'azythromycine sont efficaces *in vitro* (12) et cliniquement (13).

Les tétracyclines, découvertes au début des années 1940, sont des antibiotiques à large spectre, actifs sur un certain nombre de bactéries gram positif et négatif, de bactéries intracellulaires, sur des protozoaires dont *Plasmodium* (14) et plus récemment sur la filariose lymphatique (15). La première utilisation en clinique humaine des tétracyclines notamment l'auroéomycine (chlortétracycline) dans le traitement du paludisme remonte à 1950 (16). Au Mexique, en 1952 (17) et 1956 (18), Ruiz-Sanchez et Coll utilisent avec succès de la terramycine (oxytétracycline) dans le traitement d'accès palustres simples à *P. falciparum* et *P. vivax* sur de petites séries de patients (15 et 17 respectivement). Puis avec le développement de la résistance à la chloroquine dans les années 1960, plusieurs études seront réalisées dans les années 1970, dont deux (19,20), sur lesquelles nous reviendrons ultérieurement, serviront de références au Center for Disease Control dans ses recommandations émises en 1985 sur l'utilisation de la doxycycline en chimioprophylaxie du paludisme à *P. falciparum*. Actuellement, cette molécule est utilisée en thérapeutique en association avec la quinine et en chimioprophylaxie en zone de multi résistances en particulier en Asie du sud-est. Enfin, elle est employée en première intention en chimioprophylaxie en zones de chloroquinorésistance par les forces militaires françaises déployées en zone d'endémie palustre.

Cette revue a pour objectif de présenter les propriétés pharmacologiques, les mécanismes d'action et l'activité sur le parasite, l'efficacité thérapeutique et chimioprophylactique, la tolérance ainsi que les perspectives de la doxycycline dans le traitement du paludisme.

PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES

Les principales données concernant les paramètres pharmacocinétiques de la doxycycline sont résumées dans le tableau I. La doxycycline est très rapidement absorbée par os puisqu'elle est détectable dans le sang 15 à 30 minutes après sa prise (21-23). La majeure partie de l'absorption s'effectue au niveau du duodénum (23) et n'est pas modifiée par l'alimentation, les laitages ou les cations; en revanche la didanosine, les sels de fer, les topiques gastro-intestinaux, les anti-convulsivants inducteurs enzymatiques, l'alcool et la dénutrition diminuent son absorption. La biodisponibilité de la doxycycline est élevée avec près de 95%. La concentration

Tableau I - Données pharmacocinétiques de la doxycycline.

Paramètres pharmacocinétiques		Doxycycline	
Biodisponibilité		95 %	
T _{max} (heures)		2-4	
Volume de distribution (ml/kg)		1451 ^a	
Demi-vie sérique (heures)		14-26	
Liaison aux protéines plasmatiques		82-93 %	
Rapport [GR]/[plasmatiques]		2,3 ^b	
Métabolisation		aucune	
Demi-vie d'élimination (heures)		3 jours	
Élimination		Urines et fèces	
C _{max} (µM)	Prophylaxie	Enfant	ND
		Adulte	ND
	Traitement	Enfant	ND
		Adulte ^a	3,17 (1,63-7,72)
AUC (µg.h/ml)	Prophylaxie	Enfant	ND
		Adulte	ND
	Traitement	Enfant	ND
		Adulte ^a	49,6 (25,1-140,1)

ND: non déterminé, ^a: variable en fonction du poids et de l'âge du patient (n=17 patients, Newton, 2005), ^b: mesures réalisées *in vitro* (26).

plasmatique maximale de la doxycycline (C_{max}) varie de 1,5 à 7 µg/ml et est habituellement atteinte en 3 heures, sa demi-vie varie de 14 à 26 heures (24). Les C_{max} sont plus importantes chez les personnes âgées en raison d'une baisse de l'élimination digestive et sont plus faibles chez les adolescents pour des raisons inconnues (25). La doxycycline est fortement liée aux protéines plasmatiques jusqu'à 93% et ne s'accumule pas véritablement dans les globules rouges où sa concentration n'est que de 2,3 fois plus élevée que celle dans le milieu de culture correspondant (26). Elle possède une très bonne diffusion tissulaire du fait de son extrême liposolubilité et n'est pas métabolisée. Elle est excrétée en trois jours dans les fèces par la bile à près de 40% et pour 30% dans les urines.

De nombreux travaux ont porté sur les propriétés pharmacocinétiques de la doxycycline chez des volontaires sains, mais très peu malheureusement ont été réalisés au cours d'infections. Une seule étude a été effectuée lors du traitement d'accès palustres simples en association avec de la quinine ou de l'artésunate (27). Sur une série de 17 patients, elle a montré que la posologie de 3,5 mg/kg par jour choisie empiriquement est insuffisante avec une demi-vie de seulement 10,5 heures. Il conviendrait selon les auteurs de réaliser une dose de charge initiale de 400 mg et une administration biquotidienne de doxycycline afin de maintenir des concentrations plasmatiques à des taux thérapeutiques au cours du traitement de l'infection palustre.

MÉCANISMES D'ACTION

Les cyclines sont une famille d'antibiotiques connus depuis longtemps pour inhiber la synthèse protéique des bactéries. Leur mécanisme d'action a même été élucidé au niveau moléculaire puisqu'elles se fixeraient aux protéines S4, S7

et S9 de la petite sous unité ribosomale 30S et à différents acides ribonucléiques de l'ARN ribosomal 16S (28), empêchant la liaison de l'aminocyl ARN de transfert au site A du ribosome et bloquant ainsi l'élongation de la traduction. En revanche, leurs mécanismes d'action sur *Plasmodium* sont bien moins clairement identifiés (même si le dictionnaire Vidal au sujet du Doxypalu® tient pour acquis l'inhibition de la synthèse protéique cytoplasmique plasmodiale).

En 1976, une étude (29) met en évidence une inhibition de plus de 95 % de la synthèse protéique par la chlorotétracycline sur un système de traduction cytosolique *in vitro* de *Plasmodium knowlesi* (espèce simienne de *Plasmodium* également responsable de rares infections humaines à Bornéo où elle se confond cliniquement avec des infections à *Plasmodium malariae*). Or la concentration utilisée de 10^{-4} M serait probablement toxique chez l'homme puisqu'elle correspond à plus de 10 fois la dose utilisée en thérapeutique. Plusieurs études ultérieures ont montré une action des cyclines sur la mitochondrie plasmodiale à des concentrations de $1\mu\text{M}$ ou de $10\mu\text{M}$ proches de celles atteintes en clinique. Une première étude met en évidence une synergie d'action *in vitro* entre la durée d'exposition du parasite à la tétracycline et l'augmentation de la teneur en oxygène de l'environnement de *Plasmodium* (30), ce qui suggère une action des tétracyclines sur la mitochondrie. Celle-ci est plus impliquée dans le contrôle du stress oxydatif que dans la production d'énergie chez *Plasmodium* dont le métabolisme est anaérobie (31). La tétracycline inhiberait directement la synthèse protéique mitochondriale comme le suggèrent trois études (32-34) et diminuerait également l'activité d'une enzyme mitochondriale, la dihydroorotate déhydrogénase, impliquée dans la synthèse de novo des pyrimidines (35). La doxycycline inhiberait la synthèse des nucléotides et des déoxynucléotides chez *Plasmodium falciparum* (36), mais là encore, la concentration utilisée ($200\mu\text{M}$) est bien plus élevée que celles observées en clinique. L'exposition de *P. falciparum* à la minocycline *in vitro* diminuerait également la transcription de gènes mitochondriaux (sous unité I de la cytochrome c oxidase et l'apocytochrome b) et de gènes de l'apicoplaste (sous unité rpoB/C de l'ARN polymérase) suggérant une activité sur ces deux organelles (37). Enfin une étude plus récente (38) montre que la doxycycline agirait spécifiquement sur l'apicoplaste de *Plasmodium falciparum*, et dans une moindre mesure sur la mitochondrie dont la division est inhibée en fin de cycle et que les auteurs attribuent à l'atteinte apicoplastique (les deux organites ayant des voies métaboliques communes). Un parasite exposé à $1\mu\text{M}$ de doxycycline pendant 20 heures présente au cours du cycle suivant (à 72 heures) une inhibition de la répllication apicoplastique visualisée en microscopie confocale à fluorescence, en microscopie électronique et par une analyse du transcriptome parasitaire. Cependant, une autre équipe n'avait pas constaté d'inhibition de la répllication de l'apicoplaste de *Toxoplasma gondii* autre membre des apicomplexes comme *P. falciparum* en soumettant le parasite à $100\mu\text{M}$ de tétracycline pendant 48 heures (39).

ACTIVITÉS ANTIPLASMODIALES

Activité sur la sporogonie

Chez l'Homme, l'absence d'effet des tétracyclines sur le développement des gamétocytes [suggéré par Ruiz Sanchez (17, 18)] est confirmé par une étude menée en 1971 aux Etats-Unis sur des volontaires sains infectés expérimentalement par *P. falciparum* ou par *P. vivax* (19) et traités par tétracycline ou doxycycline. Ces molécules et la minocycline n'ont aucune action sur la sporogonie chez l'Anophèle : elles ne diminuent pas le pouvoir infectant de moustiques s'étant infestés sur des porteurs de gamétocytes sous traitement (20).

Activité sur les formes hépatiques

En 1972, Willerson *et Coll* montraient l'efficacité de la minocycline sur les formes hépatiques de *P. falciparum* puisque l'administration de 100 mg par jour pendant 7 jours débutée un jour avant une exposition aux parasites évitait la survenue d'un accès palustre chez quatre volontaires sains non immuns (20). Plusieurs études réalisées *in vivo* sur des modèles simiens (singes rhésus et chimpanzés) infectés par *P. cynomolgi bastianellii*, *P. vivax* ou *P. cynomolgi ceylonensis* ont montré que la terramycine, la minocycline ou la déméclocycline présentaient également une activité sur les formes hépatiques (40-42). Dans un modèle murin, la doxycycline s'avère également efficace sur les formes hépatiques de *P. berghei* et *P. yoelii yoelii* (43), l'administration de 1,4 mg de doxycycline en même temps ou trois heures après l'injection de sporozoïtes prévenait l'apparition d'une parasitémie chez 100 % des rongeurs (n=10) par rapport aux témoins non traités.

Cependant, une étude menée aux Etats-Unis par l'armée américaine sur des volontaires sains non immuns en 1994 (44) a montré que la doxycycline n'était que partiellement efficace sur les formes hépatiques de *P. falciparum*. Sur douze sujets qui recevaient 100 mg de doxycycline par jour trois jours avant une exposition à des moustiques infectés et pendant les six jours suivants, quatre ont développé un accès palustre. Cette étude et ces résultats ont justifié la recommandation du schéma prophylactique actuellement adopté avec la doxycycline qui impose sa prise quotidienne pendant quatre semaines après le retour d'une zone d'endémie.

Activité sur les formes érythrocytaires

Selon Geary *et Coll* (45), les cyclines sont actives sur les trois stades de développement asexué érythrocytaires de *P. falciparum* de manière équivalente. Selon Dahl *et Coll* (38), les trophozoïtes âgés et les jeunes schizontes seraient plus sensibles à la doxycycline que les trophozoïtes jeunes et les schizontes âgés. Il existe une relation dépendant de la dose et du temps quant à l'efficacité de la doxycycline sur les stades érythrocytaires avec une activité majorée lors du deuxième cycle et ce même après une brève exposition à $1\mu\text{M}$ au cours du premier cycle (résultats personnels non publiés).

La sensibilité *in vitro* de *Plasmodium falciparum* à la doxycycline ou concentration inhibitrice 50 % (CI₅₀) est de l'ordre de 5,1 µM [3,10-8,38] pour des souches multi résistantes (provenant d'Afrique ou d'Asie du Sud Est) et de 4,3 µM [2,90-6,38] pour des isolats d'Afrique de l'Ouest (46). Si l'on compare les valeurs des CI₅₀ de la doxycycline à celles des autres molécules antipaludiques qui sont toutes inframicromolaires, la doxycycline paraît donc beaucoup moins active. Une étude plus récente réalisée sur 71 isolats sénégalais (CI₅₀ moyenne de 11,3 µM [9,5-13,4] pour la doxycycline) a montré l'absence de corrélation observée entre les réponses *in vitro* des isolats à la doxycycline, l'arthéméter, la chloroquine, la quinine, l'amodiaquine, la pyriméthamine et le cycloguanil, suggérant une absence de résistance croisée entre ces molécules (47). Cela justifie son utilisation en association avec un schizontocide rapide en thérapeutique. Il n'existe pas a priori de synergie d'action entre les cyclines et la chloroquine, la méfloquine ou la quinine (48). En revanche, il apparaît une synergie d'action entre la doxycycline et l'atovaquone (49, 50) et entre la doxycycline et l'artémisinine (51, 52) même si une autre étude montrait plutôt un effet additif (53). Une analyse statistique des CI₅₀ de plus de 700 isolats nous a permis de fixer un seuil de diminution de sensibilité *in vitro* à 30 µM pour *P. falciparum* vis-à-vis de la doxycycline (publication en cours).

EFFICACITÉ DE LA DOXYCYCLINE

Traitement du paludisme

Toutes les études menées dans les années 1950 (17, 18) et 1970 (19, 20, 54, 55) avaient montré l'efficacité des cyclines en monothérapie dans le traitement d'accès simples à *P. falciparum* et *P. vivax*. Cependant, en cas d'infections à *P. vivax*, des rechutes étaient systématiquement observées deux à trois mois suivant le premier accès (56), voire à moins d'un mois dans une étude plus récente (57), témoignant d'une inactivité des cyclines sur les hypnozoïtes. En outre, pour obtenir une cure radicale, une durée minimale de traitement de 7 jours était nécessaire et la disparition des parasites n'était effective qu'en quatre à cinq jours en moyenne pour *P. falciparum* et environ de 7 jours pour *P. vivax* (à la dose de 200 mg par jour de doxycycline). Étant donné le risque rapide d'évolution d'un accès palustre simple à *P. falciparum* vers une forme grave, il est donc totalement exclu d'utiliser les cyclines seules (schizontocides lents) en thérapie. En revanche, leurs associations à d'autres molécules antipaludiques en zone de multirésistances (principalement la Thaïlande) ont fait l'objet de nombreuses études (58-73) qui sont résumées dans le tableau II.

Le traitement «standard» des accès simples à *P. falciparum* en zone de multi résistances peut reposer sur l'association de la quinine (10 mg/kg/jour) à la doxycycline (200 mg par jour) pendant 7 jours. Il permet d'obtenir une cure radicale même en cas de diminution de la sensibilité *in vitro* d'isolats à la quinine (74). Cette bithérapie, administrée aux posologies et pendant une durée indiquée ci-dessus, est associée selon les études résumées dans le tableau II à une

efficacité thérapeutique de 91 à 100 % en zone de multi résistances. Toutes les autres associations testées lui sont inférieures ou égales en termes d'efficacité thérapeutique, de clairance parasitaire ou de disparition de la fièvre et sont souvent plus onéreuses, à l'exception de l'association clindamycine quinine qui constituerait une alternative intéressante dans le traitement du paludisme chez la femme enceinte et les enfants de moins de 8 ans chez qui les cyclines sont contre-indiquées.

Chimioprophylaxie du paludisme

Actuellement, la doxycycline est utilisée à la dose de 100 mg/j depuis le premier jour en zone d'endémie jusqu'à quatre semaines après le retour, dans la chimioprophylaxie du paludisme à *P. falciparum* en zone de multi résistance. Ce schéma a été initialement préconisé par l'OMS en 1985 qui s'appuyait alors sur des travaux déjà évoqués (19, 20). Les principales études portant sur l'efficacité et la tolérance de la doxycycline en prophylaxie sont résumées dans le tableau III. Elles ont été réalisées sur différents types de populations suivies pendant une période d'au moins 28 jours après l'arrêt de la prophylaxie : des sujets semi immuns ou immuns vivant en zone d'endémie (75-82) et des voyageurs non immuns, principalement des militaires appartenant à différentes armées (83-89). Les résultats montrent une efficacité de 91 à 99 % chez les sujets immuns et semi immuns et de 95 à 100 % chez les voyageurs. La plupart des échecs observés dans la prophylaxie des accès palustres à *P. falciparum* sont liés soit à une inadéquation des posologies confirmée par de faibles concentrations plasmatiques en doxycycline (79), à l'utilisation de demi doses (76) ou à une mauvaise observance (84, 90). Il existe cependant de véritables échecs prophylactiques ; deux soldats australiens ont ainsi présenté un accès palustre à *P. falciparum* 2 semaines après leur retour de Papouasie Nouvelle-Guinée malgré une bonne observance (vérifiée par dosage plasmatique de la doxycycline) (85). Aucun test de chimiosensibilité *in vitro* des isolats à la doxycycline n'a été réalisé dans ces cas.

Les principales études cliniques d'efficacité et de tolérance de la doxycycline dans la prophylaxie du paludisme à *P. vivax* sont résumées dans le tableau IV. Les résultats montrent une efficacité de 83,1 à 98,7 % chez les sujets immuns et semi immuns et de 52,7 à 100 % (en association à la primaquine ou à la chloroquine pendant toute la durée de la prophylaxie et avec une cure radicale par la primaquine à la posologie de 15 mg/j pendant 15 jours au retour) chez les voyageurs. La doxycycline est donc inefficace dans la prévention des reviviscences (à partir d'hypnozoïtes) à *P. vivax* ou *P. ovale*. La survenue d'au moins deux accès palustres documentés à l'une de ces espèces plasmodiales au retour d'une zone d'endémie justifie un traitement radical par la primaquine.

Résistance à la doxycycline

Les seules pressions médicamenteuses avec des cyclines sur *Plasmodium* ont été effectuées dans un modèle murin sur *Plasmodium berghei* (91). L'administration de doses croissantes de minocycline à des souris infectées par

Tableau II - Etudes cliniques comparant ou non une association aux cyclines à d'autres thérapeutiques dans le traitement des accès palustres à *P. falciparum*.

Etude			Traitement	Nbre de patients	Clairance parasitaire (jours)	Disparition de la fièvre (jours)	Efficacité (%) (durée du suivi en jours)
Colwell, 1972	Adultes	Thaïlande	QT	30	3,6	ND	96,6 (28)
			QCq	36	3,2	ND	41,6 ^a (28)
Chin, 1973	Adultes	Thaïlande	Q ^b	10	2,1	3	75 (28)
			QT ^b	12	2,4	2,2	66,7 (28)
			QTPy ^b	13	1,6	2,8	66,7 (28)
Colwell, 1973	Adultes	Thaïlande	QT ^c	32	2,4	4	84 (28)
			QB ^c	31	2,7	3	81 (28)
Noeypatimanond, 1983 Giboda, 1988	Adultes Enfants	Thaïlande	TAm	51	4,1	ND	96 (28)
	Adultes	Cambodge	Q	43	5,6	3,6	41,8 ^d (12)
			QT	22	5,9	3,8	100 ^d (12)
Looareesuwan, 1994	Adultes	Thaïlande	MT	47	2,7	2	94 (28)
			QT	46	3,1	2,6	98 (28)
Looareesuwan, 1994	Adultes	Thaïlande	MD	48	2,9	1,7	96 (28)
			AD	49	2,7	1,6	80 (28)
Metzger, 1995	Adultes	Gabon	Q	37	2,2	2	38 (28)
			QCl	36	2,4	2	92 (28)
			QD	35	2,2	2	91 (28)
Na-Bangchang, 1996	Adultes	Thaïlande	AAze	30	1,2	0,8	14,8 (28)
			ADe	30	1,3	1,1	53,3 (28)
Looareesuwan, 1996	Adultes	Thaïlande	AtT	25	2,8	1,3	100 (28)
			AtP	24	3	3,5	100 (28)
			AtD	22	2,7	2,2	91 (28)
			AtPy	13	2,6	2,5	77 (28)
Duarte, 1996	Adultes	Brésil	AT ^f	88	ND	ND	80 (28)
	Enfants		QT ^f	88	ND	ND	77 (28)
Bunnag, 1996	Adultes	Thaïlande	QT ^g	46	3,7	3,1	87 (28)
			QT ^g	40	3,7	3,1	100 (28)
Pukrittayakamee, 2000	Adultes	Thaïlande	Q	68	3,2	2,3	87 (28)
	Enfants		QCl	68	3,3	2	100 (28)
			QT	68	3,2	1,5	98 (28)
Taylor, 2001	Adultes	Irian Jaya	Cq	30	2,8	1,7	22 (28)
			D	20	3,8	2,6	64,7 (28)
			DCq	39	3,4	2,5	90,9 (28)
Pukrittayakamee, 2004	Adultes	Thaïlande	Q	30	3,3	2,6	84 (28)
	Enfants		QT	30	3,4	1,4	100 (28)
			QPr	29	3,2	2	72 (28)
			QPr	37	3,3	2,5	93 (28)
			A	23	2,9	1,4	90,5 (28)
			APr	27	2,6	1,3	84 (28)
Alecrim, 2006	Adultes	Brésil	ArLu	28	1,9	ND	100 (6)
			QD	31	3,3	ND	100 (6)

a : étude réalisée en zone de chloroquinorésistance ; b : quinine pdt 7j, quinine tétracycline pdt 3j et quinine tétracycline pyriméthamine pdt 3j ; c : quinine pdt 1j, tétracycline pdt 7j et bactrim pdt 5j ; d : sensibilité in vivo après 10j de traitement ; e : artésunate dose de charge + doxycycline pdt 5j ou azithromycine pdt 2j ; f : artésunate + tétracycline pdt 7j et quinine pdt 3j + tétracycline pdt 7j ; g : quinine pdt 5 ou 7j + tétracycline pdt 7j.

Q : quinine ; T : tétracycline ; Cq : chloroquine ; Py : pyriméthamine ; B : bactrim ; Am : amodiaquine ; M : méfloquine ; D : doxycycline ; A : artésunate ; Cl : clindamycine ; Az : azithromycine ; At : atovaquone ; P : proguanil ; Pr : primaquine ; Ar : arthémeter, Lu : luméfántrine.

Tableau III - Etudes cliniques d'efficacité et de tolérance, comparatives ou non, de la doxycycline en prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*.

Etude			Molécule utilisée	Durée proph. (jours)	Nbre de patients	Nbre de cas	Efficacité (%) (durée moyenne du suivi en jours)
Patients vivant en zone d'endémie							
Pang, 1987	Enfants	Thaïlande	DOX	44	95	5	94,7 (63)
			Cq	37	93	31	66,7 (63)
Pang, 1988	Enfants	Thaïlande	DOX ¹	97	77	2	97,4 (150)
			DOX ²	107	77	2	97,4 (150)
			Vit B	86	80	16	NA (150)
Watanasook, 1989	Adultes	Thaïlande	DOX ³	119	243	18	92,6 (119)
			DOX ⁴	119	243	38	84,4 (119)
			Mal	119	123	25	79,7 (119)
Shanks, 1992	Adultes	Thaïlande	P-Da	80	184	19	89,7 (80)
			Py-Da	80	177	21	88,7 (80)
			DOX	80	77	3	96,1 (80)
Weiss, 1995	Enfants	Kenya	Vit	77	64	20	NA (98)
			Pr*	77	78	4	83 (98)
			DOX*	77	74	2	91 (98)
			M*	77	74	4	81 (98)
			Cq-P*	77	73	7	72 (98)
Ohrt, 1997	Adultes	Irian Jaya	DOX*	87	67	1	99 (87)
			M*	91	68	0	100 (91)
			Placebo	48	69	53	NA (48)
Andersen, 1998	Adultes	Kenya	DOX*	70	48	3	92,6 (98)
			Az ⁵ *	70	55	8	82,7 (98)
			Az ⁶ *	70	53	16	64,2 (98)
			Placebo	70	57	48	NA (98)
Taylor, 1999	Adultes	Irian Jaya	DOX*	140	75	2	96,3 (140)
			Az ⁵ *	140	148	27	71,6 (140)
			Placebo	140	77	29	NA (140)
Voyageurs							
Rieckmann, 1993	Adultes	Papouasie Nouvelle-Guinée	M	28	40	0	100 (208)
			DOX	42	60	0	100 (63)
			DOX-Pr	21	69	0	100 (42)
			DOX-Cq	84	125	0	100 (84)
Shanks, 1995	Adultes	Somalie Cambodge	DOX ⁷	140	900	1	99,9 (260)
			DOX-Cq ⁸	140	600	2	99,7 (260)
Shanks, 1995	Adultes	Papouasie Nouvelle-Guinée	DOX-Pr ⁹	42	53	2	96,2 (322)
Baudon, 1999	Adultes	Gabon et Centrafrique	DOX	150	171	5	97,1 (210)
			Cq-P	150	270	26	91,4 (210)
Schwartz, 1999	Adultes	Ethiopie	M	ND	25	0	100 (498)
			DOX	ND	19	1	95 (498)
			Cq	ND	8	3	62,2 (498)
			Pr	ND	106	4	96,2 (498)
Peragello, 2002	Adultes	Timor oriental	M	168	280	0	100 (708)
			DOX ¹⁰	168	5860	94	98,4 (708)
Sonmez, 2005	Adultes	Afghanistan	M	84	414	0	100 (264)
			DOX	84	986	0	100 (264)

NA : non appréciable ; * : l'efficacité = 100 x [1-(taux d'échec/taux d'échec dans le groupe placebo)] ; 1 : doxycycline 100 mg/j ou 50 mg/j selon le poids ; 2 : doxycycline 50 mg/j ou 25 mg/j selon le poids ; 3 : doxycycline 100 mg/j ; 4 : doxycycline 50 mg/j ; 5 : azithromycine 250 mg/j ; 6 : azithromycine 1000 mg/sem ; 7 : + primaquine au retour 15 mg/j pdt 15 jours ; 8 : + primaquine au retour 15 mg/j pdt 15 jours ; 9 : + primaquine 7,5 mg/j pdt 5 jours ; 10 : + primaquine 7,5 mg 3 fois/j pdt 14j au retour. DOX : doxycycline ; Cq : chloroquine ; Mal : Maloprim® (pyriméthamine+dapsone) ; P : proguanil ; Py : pyriméthamine ; Da : dapsone ; Pr : primaquine ; M : méfloquine ; Az : azithromycine.

Tableau IV - Etudes cliniques d'efficacité et de tolérance, comparatives ou non, de la doxycycline en prophylaxie du paludisme à *P. vivax*.

Etude			Molécule utilisée	Durée proph. (jours)	Nbre de patients	Nbre de cas	Efficacité (%) (durée moyenne du suivi en jours)
Patients vivant en zone d'endémie							
Pang, 1988	Enfants	Thaïlande	DOX ¹	97	77	3	96,1 (150)
			DOX ²	107	77	16	79,2 (150)
			Vit B	86	80	62	NA (150)
Watanasook, 1989	Adultes	Thaïlande	DOX ³	119	243	28	88,5 (119)
			DOX ⁴	119	243	41	83,1 (119)
			Mal	119	123	64	48 (119)
Shanks, 1992	Adultes	Thaïlande	P-Da	80	184	3	98,4 (80)
			Py-Da	80	177	22	87,6 (80)
			DOX	80	77	1	98,7 (80)
Taylor, 1999	Adultes	Irian Jaya	DOX* ⁵	140	75	1	98,7 (140)
			Az ⁶ *	140	148	1	99,3 (140)
			Placebo	140	77	27	NA (140)
Voyageurs							
Rieckmann, 1993	Adultes	Papouasie Nouvelle-Guinée	M	28	40	4	90 (208)
			DOX	42	60	2	96,7 (63)
			DOX-Pr	21	69	0	100 (42)
			DOX-Cq	84	125	0	100 (84)
Shanks, 1995	Adultes	Somalie Cambodge	DOX ⁶	140	900	2	99,8 (260)
			DOX-Cq ⁷	140	600	6	99 (320)
Shanks, 1995	Adultes	Papouasie Nouvelle-Guinée	DOX-Pr ⁸	42	53	9	83 (322)
Schwartz, 1999	Adultes	Ethiopie	M	ND	25	13	48 (498)
			DOX	ND	19	9	52,7 (498)
			Cq	ND	8	1	87,5 (498)
			Pr	ND	106	1	99,1 (498)
Peragello, 2002	Adultes	Timor oriental	M	168	280	0	100 (708)
			DOX ⁹	168	5860	191	96,7 (708)

NA : non appréciable ; * : l'efficacité = 100 x [1-(taux d'échec/taux d'échec dans le groupe placebo)] ; 1 : doxycycline 100 mg/j ou 50 mg/j selon le poids ; 2 : doxycycline 50 mg/j ou 25 mg/j selon le poids ; 3 : doxycycline 100 mg/j ; 4 : doxycycline 50 mg/j ; 5 : azithromycine 250 mg/j ; 6 : + primaquine au retour 15 mg/j pdt 15 jours ; 7 : + primaquine au retour 15 mg/j pdt 15 jours ; 8 : + primaquine 7,5 mg/j pdt 5 jours ; 9 : + primaquine 7,5 mg 3 fois/j pdt 14j au retour. DOX : doxycycline ; Cq : chloroquine ; Mal : Maloprim® (pyriméthamine+dapsone) ; P : proguanil ; Py : pyriméthamine ; Da : dapsone ; Pr : primaquine ; M : méfloquine ; Az : azithromycine.

10⁷ parasites après 86 passages successifs sur une période de 600 jours a permis d'obtenir une souche «résistante» avec une CI₅₀ = 600 mg/kg/j seulement six fois supérieure à celle de la souche sensible de départ (100 mg/kg/jour). Cependant cette résistance était instable. Après 16 passages supplémentaires, sans pression de sélection, chez la souris, la souche avait retrouvé sa sensibilité initiale. Le résultat d'aucune pression médicamenteuse *in vitro* sur *P. falciparum* par des cyclines n'a été publié.

Malgré l'existence d'échecs prophylactiques avec la doxycycline, aucune résistance n'a été véritablement objectivée par des tests de sensibilité *in vitro*. A ce jour, il n'existe aucun marqueur moléculaire associé à une résistance de *P. falciparum* à la doxycycline. Par ailleurs, les échecs thérapeutiques rapportés avec l'association quinine + doxycycline n'ont jamais été documentés vis-à-vis d'une résistance à la doxycycline.

TOLÉRANCE DE LA DOXYCYCLINE

La doxycycline est contre-indiquée en cas d'allergies aux cyclines, chez la femme enceinte à partir du deuxième trimestre de grossesse en raison d'un risque d'anomalies du bourgeon dentaire (chez l'animal et quelques femmes enceintes traitées par cyclines, aucun effet tératogène n'a été observé) et chez l'enfant de moins de huit ans à cause du risque de dys-

chromie et d'hypoplasie de l'émail dentaire. L'association à des rétinoïdes est également contre-indiquée, car elle peut engendrer une hypertension intracrânienne. Les principales interactions médicamenteuses qui diminuent l'absorption duodénale de la doxycycline ont déjà été présentées dans le chapitre consacré à ses propriétés pharmacocinétiques. Nous rappelons que l'association à des anticoagulants est à éviter car elle favorise la survenue d'accidents hémorragiques.

Les effets secondaires des cyclines sont parfaitement connus depuis leur utilisation dans le traitement des infections bactériennes. Leur tolérance est très bonne dans le traitement de l'acné au long cours (de plusieurs mois jusqu'à cinq ans) et à faible dose (250 mg d'oxytétracycline une à deux fois par jour ou 100 mg de minocycline une à deux fois par jour) (92, 93), ne nécessitant aucun suivi biologique particulier (94). Dans le cadre de la chimioprophylaxie du paludisme, où la doxycycline peut également être utilisée pendant plusieurs mois à faible dose (100 mg/j), ses principaux effets secondaires rapportés dans la littérature sont par ordre de fréquence :

- des troubles digestifs (dans 2,5 à 20 % des cas selon les études), avec de rares oesophagites et ulcérations oesophagiennes (95, 96) qui ne sont pratiquement plus rapportées depuis l'introduction de la forme monohydrate moins ulcérogène que l'ancienne formule monohydrate (97);

- des troubles du sommeil (dans 1,3 à 14 % des cas) et des maux de tête (environ 10 %) sont rapportés (89-98);

- des signes cutanés (dans 0,6 à 8 % des cas selon les auteurs) avec urticaires, photosensibilisations [la phototoxicité de la doxycycline est fonction de la dose, à 200 mg 50 % de sujets sont photosensibilisés (99)], desquamation, rash cutanés (100), exceptionnellement elle peut induire des photo-onycholyses (101);

- des candidoses vaginales peuvent survenir chez environ 1 % des femmes;

- deux cas d'hypertension intracrânienne ont été recensés chez des patients sans facteur de risques cardiovasculaires ou neurologiques particuliers suite à la prise de doxycycline en chimioprophylaxie du paludisme (102).

La tolérance de la doxycycline est relativement bonne et équivalente à la plupart des autres antipaludiques utilisés en prophylaxie. Le véritable problème se pose bien plus en terme d'observance. De retour en métropole, le risque de paludisme devient négligeable dans l'esprit de la plupart des patients méconnaissant le plus souvent l'incubation silencieuse liée à la phase de développement hépatique. La mauvaise observance de la prophylaxie pendant le mois suivant le retour de zone d'endémie est associée à la majorité des cas de paludisme d'importation observés chez les militaires français ces dernières années.

L'utilisation d'un antibiotique pendant plusieurs mois en prophylaxie du paludisme suscite toujours l'opposition d'un certain nombre d'infectiologues et de bactériologistes qui évoquent le risque de sélection de bactéries résistantes aux cyclines [l'épidémiologie moléculaire et les mécanismes bactériens de résistance aux cyclines ont été largement décrits par Chopra en 2001 (14)]. En 1988, une première publication a rapporté des cas de gastroentérites à *Campylobacter*

jejuni résistant aux tétracyclines chez des militaires américains en exercice en Thaïlande (103). Une étude ultérieure menée par la même équipe montrera en fait que la prise de doxycycline en prophylaxie du paludisme expose moins à la sélection de bactéries résistantes qu'à l'acquisition de bactéries déjà résistantes aux cyclines et largement répandues dans ce pays depuis longtemps (104). Depuis, aucun travail n'a été publié sur le risque d'émergence de résistances bactériennes aux cyclines associé à leur utilisation en prophylaxie du paludisme.

PERSPECTIVES

L'émergence et la rapide extension de la résistance de *P. falciparum* aux principaux antipaludiques existants rendent impérative la recherche de nouvelles molécules. En attendant, la doxycycline constitue une excellente molécule pour le traitement des accès palustres simples en zone de multi-résistances en association à la quinine pendant 7 jours et pour la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*, où sa bonne tolérance et son efficacité ont été prouvées. La doxycycline est actuellement le seul antipaludique pour lequel aucune résistance de *P. falciparum* n'a été décrite. Les principaux problèmes rencontrés en prophylaxie du paludisme par la doxycycline sont liés à une diminution de la compliance des sujets pendant la durée du séjour en zone endémique et surtout à une mauvaise observance au retour. Une meilleure compréhension des mécanismes d'action de la doxycycline sur *P. falciparum* et l'identification de ses cibles moléculaires permettraient la conception d'analogues structuraux encore plus efficaces (CI₅₀ de l'ordre du nano molaire) et à demi-vie plus longue.

RÉFÉRENCES

- 1 - SNOW RW, GUERRA CA, NOOR AM *et Coll* - The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 2005; **434** : 214-7.
- 2 - TRAPE JF, PISON G, SPIEGEL A *et Coll* - Combating malaria in Africa. *Trends Parasitol* 2002; **18** : 224-30.
- 3 - ROGIER C, ORLANDI-PRADINES E, FUSAI T *et Coll* - Malaria vaccines: prospects and reality. *Med Mal Infect* 2006; **36** : 414-22.
- 4 - PRADINES B, VIAL H, OLLIARO P - Malaria prophylaxis and treatment: problems, recent developments and perspectives. *Med Trop* 2003; **63** : 79-98.
- 5 - WELLEMS TE, PLOWE CV - Chloroquine-resistant malaria. *J Infect Dis* 2001; **184** : 770-6.
- 6 - LE BRAS J, MUSSET L, CLAIN J - Antimalarial drug resistance. *Med Mal Infect* 2006; **36** : 401-5.
- 7 - DAS B, JENA RK, SWAIN KP, PARIDA P - Emerging resistance of *Plasmodium falciparum* to artemisinin and related compounds. *J Assoc Physicians India* 2000; **48** : 443-4.
- 8 - PRADINES B, ROGIER C, FUSAI T *et Coll* - *in vitro* activity of artemether against African isolates (Senegal) of *Plasmodium falciparum* in comparison with standard antimalarial drugs. *Am J Trop Med Hyg* 1998; **58** : 354-7.

- 9 - PRADINES B, MABIKA MAMFOUMBI M, PARZY D *et Coll* - *in vitro* susceptibility of Gabonese wild isolates of *Plasmodium falciparum* to artemether, and comparison with chloroquine, quinine, halofantrine and amodiaquine. *Parasitology* 1998; **117** : 541-5.
- 10 - PRADINES B, FUSAI T, DARIES W *et Coll* - Ferrocene-chloroquine analogues as antimalarial agents: *in vitro* activity of ferrochloroquine against 103 Gabonese isolates of *Plasmodium falciparum*. *J Antimicrob Chemother* 2001; **48** : 179-84.
- 11 - MUSSET L, BOUCHAUD O, MATHERON S *et Coll* - Clinical atovaquone-proguanil resistance of *Plasmodium falciparum* associated with cytochrome b codon 268 mutations. *Microbes Infect* 2006; **8** : 2599-604.
- 12 - GINGRAS BA, JENSEN JB - Activity of azithromycin (CP-62,993) and erythromycin against chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum* *in vitro*. *Am J Trop Med Hyg* 1992; **47** : 378-82.
- 13 - KUSCHNER RA, HEPPNER DG, ANDERSEN SL *et Coll* - Azithromycin prophylaxis against a chloroquine-resistant strain of *Plasmodium falciparum*. *Lancet* 1994; **343** : 1396-7.
- 14 - CHOPRA I, ROBERTS M - Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001; **65** : 232-60
- 15 - DEBRAH AY, MAND S, SPECHT S *et Coll* - Doxycycline Reduces Plasma VEGF-C/sVEGFR-3 and Improves Pathology in Lymphatic Filariasis. *PLoS Pathog* 2006; **2** : 1-15
- 16 - IMBODEN CA, COOPER WC, COATNEY GR, JEFFERY GM - Studies in human malaria. XXIX. Trials of aureomycin, chloramphenicol, penicillin, and dihydrostreptomycin against the Chesson strain of *Plasmodium vivax*. *J Natl Malar Soc* 1950; **9** : 377-80.
- 17 - RUIZ SANCHEZ F, CASILLAS J, PAREDES M *et Coll* - Terramycin in malaria therapy. *Pan Am Med Womens J* 1952; **59** : 10-5.
- 18 - GRANDE EN, SANCHEZ AR, SANCHEZ FR - The treatment of malaria with tetracycline. *Antibiotic Med Clin Ther* 1956; **3** : 193-6.
- 19 - CLYDE DF, MILLER RM, DUPONT HL, HORNICK RB - Antimalarial effects of tetracyclines in man. *J Trop Med Hyg* 1971; **74** : 238-42.
- 20 - WILLERSON D, JR., RIECKMANN KH, CARSON PE, FRISCHER H - Effects of minocycline against chloroquine-resistant falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1972; **21** : 857-62.
- 21 - FABRE J, MILEK E, KALFOPOULOS P, MERIER G - Tetracycline kinetics in man. Digestive absorption and serum concentration. *Schweiz Med Wochenschr* 1971; **101** : 593-8.
- 22 - SAIVIN S, HOUIN G - Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline. *Clin Pharmacokinet* 1988; **15** : 355-66.
- 23 - CUNHA BA, SIBLEY CM, RISTUCCIA AM - Doxycycline. *Ther Drug Monit* 1982; **4** : 115-35.
- 24 - WELLING PG, KOCH PA, LAU CC, CRAIG WA - Bioavailability of tetracycline and doxycycline in fasted and nonfasted subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 1977; **11** : 462-9.
- 25 - MAIBACH H - Second-generation tetracyclines, a dermatologic overview: clinical uses and pharmacology. *Cutis* 1991; **48** : 411-7.
- 26 - GEARY TG, DIVO AA, JENSEN JB - Uptake of antibiotics by *Plasmodium falciparum* in culture. *Am J Trop Med Hyg* 1988; **38** : 466-469.
- 27 - NEWTON PN, CHAULET JF, BROCKMAN A *Coll* - Pharmacokinetics of oral doxycycline during combination treatment of severe falciparum malaria. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49** : 1622-5.
- 28 - PIOLETTI M, SCHLUNZEN F, HARMS J *et Coll* - Crystal structures of complexes of the small ribosomal subunit with tetracycline, edeine and IF3. *Embo J* 2001; **20** : 1829-39.
- 29 - SHERMAN IW - The ribosomes of the simian malaria *Plasmodium knowlesi*—II. A cell-free protein synthesizing system. *Comp Biochem Physiol B* 1976; **53** : 447-50.
- 30 - DIVO AA, GEARY TG, JENSEN JB - Oxygen- and time-dependent effects of antibiotics and selected mitochondrial inhibitors on *Plasmodium falciparum* in culture. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; **27** : 21-7.
- 31 - KRUNGKRAI J - The multiple roles of the mitochondrion of the malarial parasite. *Parasitology* 2004; **129** : 511-24.
- 32 - BLUM JJ, YAYON A, FRIEDMAN S, GINSBURG H - Effects of mitochondrial protein synthesis inhibitors on the incorporation of isoleucine into *Plasmodium falciparum* *in vitro*. *J Protozool* 1984; **31** : 475-9.
- 33 - KIATFUENGFOO R, SUTHIPHONGCHAI T, PRAPUNWATTANA P, YUTHAVONG Y - Mitochondria as the site of action of tetracycline on *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* 1989; **34** : 109-115.
- 34 - BUDIMULJA AS, SYAFRUDDIN, TAPCHASRI P *et Coll* - The sensitivity of *Plasmodium* protein synthesis to prokaryotic ribosomal inhibitors. *Mol Biochem Parasitol* 1997; **84** : 137-41.
- 35 - PRAPUNWATTANA P, O'SULLIVAN WJ, YUTHAVONG Y - Depression of *Plasmodium falciparum* dihydroorotate dehydrogenase activity in *in vitro* culture by tetracycline. *Mol Biochem Parasitol* 1988; **27** : 119-24.
- 36 - YEO AE, RIECKMANN KH, CHRISTOPHERSON RI - Indirect inhibition by antibiotics of nucleotide and deoxynucleotide biosynthesis in *Plasmodium falciparum*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1998; **29** : 24-6.
- 37 - LIN Q, KATAKURA K, SUZUKI M - Inhibition of mitochondrial and plastid activity of *Plasmodium falciparum* by minocycline. *FEBS Lett* 2002; **515** : 71-4.
- 38 - DAHL EL, SHOCK JL, SHENAI BR, GUT J, DERISI JL, ROSENTHAL PJ - Tetracyclines specifically target the apicoplast of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50** : 3124-31.
- 39 - FICHERA ME, ROOS DS - A plastid organelle as a drug target in apicomplexan parasites. *Nature* 1997; **390** : 407-9.
- 40 - GARNHAM PC, WARREN M, KILLICK-KENDRICK R - The action of 'terramycin' on the primary exoerythrocytic development of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium cynomolgi ceylonensis*. *J Trop Med Hyg* 1971; **74** : 32-5.
- 41 - KUMAR A, DUTTA GP - Tissue schizontocidal activity of minocycline against a relapsing malaria parasite *Plasmodium cynomolgi* B. *Indian J Med Res* 1987; **85** : 519-21.
- 42 - KUMAR A, DUTTA GP - Antimalarial activity of demeclocycline against *Plasmodium cynomolgi bastianellii* in rhesus monkeys. *Ann Trop Med Parasitol* 1989; **83** : 199-206.
- 43 - MARUSSIG M, MOTARD A, RENIA L *et Coll* - Activity of doxycycline against preerythrocytic malaria. *J Infect Dis* 1993; **168** : 1603-4.
- 44 - SHMUKLARSKY MJ, BOUDREAU EF, PANG LW *et Coll* - Failure of doxycycline as a causal prophylactic agent against *Plasmodium falciparum* malaria in healthy nonimmune volunteers. *Ann Intern Med* 1994; **120** : 294-9.
- 45 - GEARY TG, DIVO AA, JENSEN JB - Stage specific actions of anti-malarial drugs on *Plasmodium falciparum* in culture. *Am J Trop Med Hyg* 1989; **40** : 240-4.
- 46 - BASCO LK, LE BRAS J - Activity *in vitro* of doxycycline against multidrug-resistant *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; **87** : 469-70.
- 47 - PRADINES B, SPIEGEL A, ROGIER C, TALL A *et Coll* - Antibiotics for prophylaxis of *Plasmodium falciparum* infections: *in vitro* activity of doxycycline against Senegalese isolates. *Am J Trop Med Hyg* 2000; **62** : 82-5.

- 48 - GERSHON PD, HOWELLS RE - Combination of the antibiotics erythromycin and tetracycline with three standard antimalarials against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Ann Trop Med Parasitol* 1984; **78** : 1-11.
- 49 - CANFIELD CJ, PUDNEY M, GUTTERIDGE WE - Interactions of atovaquone with other antimalarial drugs against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Exp Parasitol* 1995; **80** : 373-81.
- 50 - YEO AE, EDSTEIN MD, SHANKS GD, RIECKMANN KH - Potentiation of the antimalarial activity of atovaquone by doxycycline against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Parasitol Res* 1997; **83** : 489-91.
- 51 - YE Z, VAN DYKE K - Interaction of artemisinin and tetracycline or erythromycin against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Parasite* 1994; **1** : 211-8.
- 52 - SPONER U, PRAJAKWONG S, WIEDERMANN G *et Coll* - Pharmacodynamic interaction of doxycycline and artemisinin in *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46** : 262-4.
- 53 - FIVELMAN QL, WALDEN JC, SMITH PJ *et Coll* - The effect of artesunate combined with standard antimalarials against chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum* in vitro. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; **93** : 429-32.
- 54 - RIECKMANN KH, POWELL RD, MCNAMARA JV *et Coll* - Effects of tetracycline against chloroquine-resistant and chloroquine-sensitive *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg* 1971; **20** : 811-5.
- 55 - LAING AB - The effect of tetracycline on *Plasmodium falciparum* in the Gambia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1972; **66** : 956-7.
- 56 - PONNAMPALAM JT - Doxycycline in the treatment of falciparum malaria among aborigine children in West Malaysia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981; **75** : 372-7.
- 57 - PUKRITTAYAKAMEE S, CLEMENS R, CHANTRA A *et Coll* - Therapeutic responses to antibacterial drugs in vivax malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; **95** : 524-8.
- 58 - COLWELL EJ, HICKMAN RL, KOSAKAL S - Tetracycline treatment of chloroquine-resistant falciparum malaria in Thailand. *Jama* 1972; **220** : 684-6.
- 59 - CHIN W, INTRAPRASERT R - The evaluation of quinine alone or in combination with tetracycline and pyrimethamine against falciparum malaria in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1973; **4** : 245-9.
- 60 - COLWELL EJ, HICKMAN RL, KOSAKAL S - Quinine-tetracycline and quinine-bactrim treatment of acute falciparum malaria in Thailand. *Ann Trop Med Parasitol* 1973; **67** : 125-32.
- 61 - NOEYPATIMANOND S, MALIKUL S, BENJAPONG W *et Coll* - Treatment of *Plasmodium falciparum* malaria with a combination of amodiaquine and tetracycline in Central Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983; **77** : 338-40.
- 62 - GIBODA M, DENIS MB - Response of Kampuchean strains of *Plasmodium falciparum* to antimalarials: in-vivo assessment of quinine and quinine plus tetracycline; multiple drug resistance in vitro. *J Trop Med Hyg* 1988; **91** : 205-11.
- 63 - LOOAREESUWAN S, VANIJANONTA S, VIRAVAN C *et Coll* - Randomised trial of mefloquine-tetracycline and quinine-tetracycline for acute uncomplicated falciparum malaria. *Acta Trop* 1994; **57** : 47-53.
- 64 - LOOAREESUWAN S, VIRAVAN C, VANIJANONTA S *et Coll* - Randomized trial of mefloquine-doxycycline, and artesunate-doxycycline for treatment of acute uncomplicated falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1994; **50** : 784-9.
- 65 - NA-BANGCHANG K, KANDA T, TIPAWANGSO P *et Coll* - Activity of artemether-azithromycin versus artemether-doxycycline in the treatment of multiple drug resistant falciparum malaria. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1996; **27** : 522-5.
- 66 - LOOAREESUWAN S, VIRAVAN C, WEBSTER HK *et Coll* - Clinical studies of atovaquone, alone or in combination with other antimalarial drugs, for treatment of acute uncomplicated malaria in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1996; **54** : 62-6.
- 67 - DUARTE EC, FONTES CJ, GYORKOS TW, ABRAHAMOWICZ M - Randomized controlled trial of artesunate plus tetracycline versus standard treatment (quinine plus tetracycline) for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1996; **54** : 197-202.
- 68 - BUNNAG D, KARBWANG J, NA-BANGCHANG K *et Coll* - Quinine-tetracycline for multidrug resistant falciparum malaria. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1996; **27** : 15-8.
- 69 - PUKRITTAYAKAMEE S, CHANTRA A, VANIJANONTA S *et Coll* - Therapeutic responses to quinine and clindamycin in multidrug-resistant falciparum malaria. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; **44** : 2395-8.
- 70 - TAYLOR WR, WIDJAJA H, RICHIE TL *et Coll* - Chloroquine/doxycycline combination versus chloroquine alone, and doxycycline alone for the treatment of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria in northeastern Irian Jaya, Indonesia. *Am J Trop Med Hyg* 2001; **64** : 223-8.
- 71 - PUKRITTAYAKAMEE S, CHOTIVANICH K, CHANTRA A *et Coll* - Activities of artesunate and primaquine against asexual- and sexual-stage parasites in falciparum malaria. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48** : 1329-34.
- 72 - ALECRIM MG, LACERDA MV, MOURAO MP *et Coll* - Successful treatment of *Plasmodium falciparum* malaria with a six-dose regimen of artemether-lumefantrine versus quinine-doxycycline in the Western Amazon region of Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2006; **74** : 20-5.
- 73 - METZGER W, MORDMULLER B, GRANINGER W *et Coll* - High efficacy of short-term quinine-antibiotic combinations for treating adult malaria patients in an area in which malaria is hyperendemic. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; **39** : 245-6.
- 74 - WATT G, LOESUTTIVIBOOL L, SHANKS GD *et Coll* - Quinine with tetracycline for the treatment of drug-resistant falciparum malaria in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1992; **47** : 108-11.
- 75 - PANG LW, LIMSOMWONG N, BOUDREAU EF, SINGHARAJ P - Doxycycline prophylaxis for falciparum malaria. *Lancet* 1987; **1** : 1161-4.
- 76 - PANG L, LIMSOMWONG N, SINGHARAJ P - Prophylactic treatment of vivax and falciparum malaria with low-dose doxycycline. *J Infect Dis* 1988; **158** : 1124-7.
- 77 - WATANASOOK C, SINGHARAJ P, SURIYAMONGKOL V *et Coll* - Malaria prophylaxis with doxycycline in soldiers deployed to the Thai-Kampuchean border. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1989; **20** : 61-4.
- 78 - SHANKS GD, EDSTEIN MD, SURIYAMONGKOL V *et Coll* - Malaria chemoprophylaxis using proguanil/dapsone combinations on the Thai-Cambodian border. *Am J Trop Med Hyg* 1992; **46** : 643-8.
- 79 - WEISS WR, OLOO AJ, JOHNSON A *et Coll* - Daily primaquine is effective for prophylaxis against falciparum malaria in Kenya: comparison with mefloquine, doxycycline, and chloroquine plus proguanil. *J Infect Dis* 1995; **171** : 1569-75.
- 80 - OHRT C, RICHIE TL, WIDJAJA H *et Coll* - Mefloquine compared with doxycycline for the prophylaxis of malaria in Indonesian soldiers. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1997; **126** : 963-72.
- 81 - ANDERSEN SL, OLOO AJ, GORDON DM *et Coll* - Successful double-blinded, randomized, placebo-controlled field trial of azithromycin and doxycycline as prophylaxis for malaria in western Kenya. *Clin Infect Dis* 1998; **26** : 146-50.
- 82 - TAYLOR WR, RICHIE TL, FRYAUFF DJ *et Coll* - Malaria prophylaxis using azithromycin: a double-blind, placebo-controlled trial in Irian Jaya, Indonesia. *Clin Infect Dis* 1999; **28** : 74-81.
- 83 - RIECKMANN KH, YEO AE, DAVIS DR *et Coll* - Recent military experience with malaria chemoprophylaxis. *Med J Aust* 1993; **158** : 446-9.
- 84 - SHANKS GD, ROESSLER P, EDSTEIN MD, RIECKMANN KH - Doxycycline for malaria prophylaxis in Australian soldiers deployed to United Nations missions in Somalia and Cambodia. *Mil Med* 1995; **160** : 443-5.

- 85 - SHANKS GD, BARNETT A, EDSTEIN MD, RIECKMANN KH - Effectiveness of doxycycline combined with primaquine for malaria prophylaxis. *Med J Aust* 1995; **162** : 306-7, 309-10.
- 86 - BAUDON D, MARTET G, PASCAL B *et Coll* - Efficacy of daily anti-malarial chemoprophylaxis in tropical Africa using either doxycycline or chloroquine-proguanil; a study conducted in 1996 in the French Army. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; **93** : 302-3.
- 87 - SCHWARTZ E, REGEV-YOCHAY G - Primaquine as prophylaxis for malaria for nonimmune travelers: A comparison with mefloquine and doxycycline. *Clin Infect Dis* 1999; **29** : 1502-6.
- 88 - PERAGALLO MS, CROFT AM, KITCHENER SJ - Malaria during a multinational military deployment: the comparative experience of the Italian, British and Australian Armed Forces in East Timor. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; **96** : 481-2.
- 89 - SONMEZ A, HARLAK A, KILIC S *et Coll* - The efficacy and tolerability of doxycycline and mefloquine in malaria prophylaxis of the ISAF troops in Afghanistan. *J Infect* 2005; **51** : 253-8.
- 90 - WALLACE MR, SHARP TW, SMOAK B *et Coll* - Malaria among United States troops in Somalia. *Am J Med* 1996; **100** : 49-55.
- 91 - JACOBS RL, KOONTZ LC - *Plasmodium berghei*: development of resistance to clindamycin and minocycline in mice. *Exp Parasitol* 1976; **40** : 116-23.
- 92 - DELANEY TJ, LEPPARD BJ, MACDONALD DM - Effects of long term treatment with tetracycline. *Acta Derm Venereol* 1974; **54** : 487-9.
- 93 - GOULDEN V, GLASS D, CUNLIFFE WJ - Safety of long-term high-dose minocycline in the treatment of acne. *Br J Dermatol* 1996; **134** : 693-5.
- 94 - DRISCOLL MS, ROTHE MJ, ABRAHAMIAN L, GRANT-KELS JM - Long-term oral antibiotics for acne: is laboratory monitoring necessary? *J Am Acad Dermatol* 1993; **28** : 595-602.
- 95 - TZIANETAS I, HABAL F, KEYSTONE JS - Short report: severe hiccups secondary to doxycycline-induced esophagitis during treatment of malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1996; **54** : 203-4.
- 96 - MORRIS TJ, DAVIS TP - Doxycycline-induced esophageal ulceration in the U.S. Military service. *Mil Med* 2000; **165** : 316-9.
- 97 - CARLBORG B, FARMER J - Esophageal corrosion tests with doxycycline monohydrate tablets. *Current Therapeutic Research* 1983; **34** : 110-115.
- 98 - KITCHENER SJ, NASVELD PE, GREGORY RM, EDSTEIN MD - Mefloquine and doxycycline malaria prophylaxis in Australian soldiers in East Timor. *Med J Aust* 2005; **182** : 168-71.
- 99 - LOESCHE C, BOCQUET J, BONNEVILLE A, FERTIN V, THOMAS P - Etude de la phototoxicité chez 30 sujets traités par la doxycycline à différentes doses. *Nouv Dermatol* 1994; **13** : 383-8.
- 100 - PAGES F, BOUTIN JP, MEYNARD JB *et Coll* - Tolerability of doxycycline monohydrate salt vs. chloroquine-proguanil in malaria chemoprophylaxis. *Trop Med Int Health* 2002; **7** : 919-24.
- 101 - RABAR D, COMBEMALE P, PEYRON F - Doxycycline-induced photo-onycholysis. *J Travel Med* 2004; **11** : 386-7.
- 102 - LOCHHEAD J, ELSTON JS - Doxycycline induced intracranial hypertension. *Br Med J* 2003; **326** : 641-2.
- 103 - TAYLOR DN, PITARANGSI C, ECHEVERRIA P, DINIEGA BM - Campylobacter enteritis during doxycycline prophylaxis for malaria in Thailand. *Lancet* 1988; **2** : 578-9.
- 104 - ARTHUR JD, ECHEVERRIA P, SHANKS GD *et Coll* - A comparative study of gastrointestinal infections in United States soldiers receiving doxycycline or mefloquine for malaria prophylaxis. *Am J Trop Med Hyg* 1990; **43** : 608-13.