

**Ministère des Enseignements  
Secondaire, Supérieur et de la  
Recherche Scientifique**

**République du Mali  
Un Peuple - Un But - Une Foi**

**Ecole Nationale de Médecine  
et de Pharmacie du Mali  
ANNEE 1993-1994**

N°     H    

**ETUDE DE LA CHIMIOSENSIBILITE *IN VIVO* & *IN VITRO*  
DE *Plasmodium falciparum* AUX ANTIMALARIQUES  
DANS UNE ECOLE PRIMAIRE DE BRAZZAVILLE (Congo)**

**Thèse**

En vue de l'obtention du grade de DOCTEUR en PHARMACIE  
(Diplôme d'Etat)

Presentée et soutenue publiquement le 22 Octobre 1994

Par **ONDIMA Aimé Guy William**

**Direction de la thèse:**

Directeur : Dr Jacques CHANDENIER  
CO-Directeur : Pr. Eric PICHARD

**Jury :**

Président : Pr. Boubacar S. CISSE

Membres: { Pr Ogobara DOUMBO  
              { Dr Abderhamane Sideye MAIGA

## REMERCIEMENTS.

La préparation de cette thèse a nécessité une collaboration diversifiée pour laquelle nous ne pouvons nous limiter, à remercier, d'une manière générale à tous ceux qui ont contribué de quelque manière que ce soit à sa réalisation.

Nos remerciements et reconnaissance vont:

- **A notre Maître et Président du jury:**

Professeur Boubacar Sidiki Cissé,  
Agrégé de Toxicologie, Chef de Service de Toxicologie à l'INRSP, Directeur Adjoint à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie (ENMP), Professeur de Toxicologie à l'ENMP.

Nous sommes sensible au grand honneur et au grand plaisir que vous nous faites en acceptant, malgré vos multiples occupations de présider le jury de notre thèse et de juger cet humble travail avec une remarquable disponibilité.

Vos connaissances académiques et vos qualités humaines font de vous le Maître respecté et écouté.

Permettez-nous de vous adresser notre respectueuse gratitude.

- **A notre Maître et Juge:**

Professeur OGOBARA DOUMBO,  
Agrégé en Parasitologie, Professeur de Parasitologie à l'ENMP.

C'est un grand honneur et un grand plaisir pour nous de vous compter parmi nos juges.

L'étendue de vos connaissances en Parasitologie mérite notre grande admiration. Espérant que nous saurons être dignes du grand honneur que vous nous faites de signer notre jury de thèse. Veuillez bien agréer cher Maître à l'expression de nos sincères remerciements.

- **A notre Maître et Juge:**

Docteur Abderhaman SIDEYE MAIGA,  
Spécialiste en Parasitologie et Mycologie, Assistant Chef de Clinique, Chef de la Section Parasitologie à l'INRSP, Professeur de Parasitologie à l'ENMP.

Tout au long de nos études, nous avons apprécié la clarté avec laquelle vous transmettez vos connaissances. C'est un grand honneur pour nous de vous compter parmi nos juges. En acceptant de juger ce travail, vous prouvez une fois de plus l'importance que vous accordez à notre formation. Veuillez bien agréer cher Maître à l'expression de nos sincères remerciements.

- **A notre Maître et Directeur de thèse:**

Docteur Jacques Chandenier,  
Spécialiste de Parasitologie et de Mycologie, Chef de Service au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie au Centre Hospitalier Universitaire de Brazzaville (CHUB), Professeur de Parasitologie et de Mycologie à l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé (INSSSA) à Brazzaville.

Vous nous faites honneur en nous confiant ce travail, tout en mesurant l'ampleur des difficultés. Vous avez conçu et dirigé ce travail avec ardeur. Votre rigueur scientifique et votre goût du travail bien fait, ainsi que votre disponibilité nous ont beaucoup marqué. Qu'il nous soit permis de vous exprimer ici, notre profonde et respectueuse gratitude.

- **A notre Maître et CO-Directeur de thèse:**

Professeur Eric PICHARD, Agrégé de Médecine Interne, Chef de Service de Médecine Interne à l'Hôpital du Point G, Professeur de Médecine Interne à l'ENMP.

C'est un grand plaisir pour nous de bénéficier de vos directives, qui ont été d'un très précieux apport dans la préparation de cette thèse.

Votre disponibilité totale nous a beaucoup marqué. Qu'il nous soit permis de vous exprimer ici, notre profonde et respectueuse gratitude.

- **A tout le personnel qui, pendant plus d'une année a participé à ce travail, le plus cordial merci en particulier:**

Au Dr Mbitsi Antoine, Médecin Parasitologiste,  
Mr Ndounga Mathieu, Biologiste Chercheur au CERVE,  
Mme Samba Yvette, Coordinatrice au CHUB,  
Mr Sakazebi Paul,  
Mr Kankou Jean Médard,  
Mr Koulengana Pascal.

Nos remerciements vont également:

Au Programme National de lutte contre le Paludisme  
Au Service culturel de la Mission Française de Coopération et d'Action Culturelle au Congo,  
Au Service du Professeur Gentilini,  
A la Direction de l'Ecole primaire de Ngaliema,  
Au Ministère de l'Education Nationale du Congo (DOB),

Notre profonde gratitude:

Aux Autorités du Mali,  
Au corps professoral,  
A la Direction de l'ENMP, en particulier à l'actuel Directeur, le Pr ISSA Traoré et l'ex Directeur le Pr ALOU BAH, nous vous transmettons le message de reconnaissance du Gouvernement Congolais pour avoir accepté de nous recevoir et d'assurer notre formation. Recevez par notre voix leurs remerciements.

DEDICACES

## Dédicaces

Je dédie ce travail :

A toute ma famille ;

\* Cher (e)s pères, mères, oncles et tantes.

Que notre famille se maintiennent et demeure plus que hier toujours unie. Votre soutien et votre assistance tout au long de ce difficile parcours m'ont été d'un reconfort inoubliable.

Que ce travail qui est aussi le votre témoigne de toute mon affection et mon amour.

\* Cher (e)s frères, sœurs, cousins et cousines.

Seule une union forte et inaltérable nous fera surmonter tous les obstacles.

Que le goût de l'effort et la la volonté de réussir vous guident toujours.

J'ai fait ce travail en pensant à vous. Toute mon affection.

\* Cher (e)s neveux et nièces.

Je vous dédies ce travail en espérant que vous ferez tous mieux que moi.

\_ A tous mes amis et amies

\_ Docteur Moukondo Pierre

\_ Docteur Yaya Georges

\_ Awa Kanté

\_ Clovis

\_ Moukalla Djoh Rosine

\_ Mbimba Vita

\_ Youssouf Sidibé

\_ Ditengou Serge

\_ Oumou Ndiaye

\_ Madou Traoré

\_ Kfangba Djaya Arthur Félix.

En souvenir de notre amitié.

\_ Aux collègues et amis de classe.

En souvenir de la solidarité et du courage dont nous avons fait preuve durant les années d'études passées ensemble.

\_ Aux familles:

Kifoueti, Minich, Oyendza-Ognako, Ndiambourila, Miateo, Talakandza et Vita.

Vous m'avez accueilli et vos portes me sont toujours restées grandement ouvertes.

Aucun mot ne pourra exprimer ma profonde reconnaissance.

\_ Au Docteur Loukaka Jean Claude.

En reconnaissance de vos sages conseils et encouragements.

\_ A monsieur Emile Hadid.

Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance.

\_ A monsieur Michel Vassos Vassiliades.

En reconnaissance de vos conseils et encouragements.

**ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI  
ANNEE UNIVERSITAIRE 1993-1994**

**LISTE DES PROFESSEURS**

Professeur Issa TRAORE	Doyen
Professeur Boubacar S.CISSE	Premier assesseur
Professeur Amadou DOLO	Deuxième assesseur
Docteur Bernard CHANFREAU	Conseiller technique
Professeur Bakary M.CISSE	Secrétaire général

**D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES**

**1- PROFESSEURS AGREGES**

Professeur Abdel Karim KOUMARE	Chef D.E.R. de chirurgie
Professeur Mamadou Lamine TRAORE	Chirurgie générale
Professeur Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur Bobacar SALL	Ortho-Traumato. Secourisme
Professeur Sambou SOUMARE	Chirurgie générale
Professeur Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumato.
Professeur Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Professeur Djibril SANGARE	Chirurgie générale

**2- ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE**

Docteur Madame Sy Aida SOW	Gynéco-Obstétrique
Docteur Kalilou OUATTARA	Urologie
Docteur Mamadou L.DIOMBANA	Odontostomatologie
Docteur Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Docteur Alhousseïni Ag.MOHAMED	O.R.L.
Docteur Madame Diané F.S.DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Anesth.-Réanimation
Docteur Sidi Yaya TOURE	Anesth.-Réanimation
Docteur Gangaly DIALLO	Chirurgie générale
Docteur Sékou SIDIBE	Ortho-Traumatologie
Docteur A.K.TRAORE dit DIOP	Chirurgie générale

**D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES**

**1- PROFESSEURS AGREGES**

Professeur Bréhima KOUMARE	Microbiologie
Professeur Siné BAYO	Anatomie-Path.
Professeur Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Professeur Yaya FOFANA	Hématologie
Professeur Ogobara DOUMBO	Parasitologie

## 2- DOCTEURS D'ETAT

Professeur Yéya Tiémoko TOURE  
Professeur Amadou DIALLO

Biologie  
Chef D.E.R. Sciences Fond.

## 3- DOCTEURS 3 ème CYCLE

Professeur Moussa HARAMA  
Professeur Massa SANOGO  
Professeur Bakary M.CISSE  
Professeur Mahamadou CISSE  
Professeur Sekou F.M.TRAORE  
Professeur Abdoulaye DABO  
Professeur N'yenigue S.KOITA

Chimie organique  
Chimie analytique  
Biochimie  
Biologie  
Entomologie médicale  
Malacologie-Biologie animale  
Chimie organique

## 4- ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Abderhamane S.MAIGA  
Docteur Anatole TOUNKARA  
Docteur Amadou TOURE

Parasitologie  
Immunologie  
Histo-Embriologie

## 5- MAITRES ASSISTANTS

Docteur Abderhamane TOUNKARA  
Docteur Flabou BOUGOUDO

Biochimie  
Bactériologie

## D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

### 1- PROFESSEURS AGREGES

Professeur Abdoulaye Ag.RHALY  
Professeur Souleymane SANGARE  
Professeur Aly GUINDO  
Professeur Mamadou K.TOURE  
Professeur Mahamane MAIGA  
Professeur Ali Nouhoum DIALLO  
Professeur Baba KOUMARE  
Professeur Moussa TRAORE  
Professeur Issa TRAORE  
Professeur Mamadou M.KEITA  
Professeur Eric RICHARD  
Professeur Toumani SIDIBE

Chef D.E.R. Médecine  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-entérologie  
Cardiologie  
Néphrologie  
Médecine Interne  
Psychiatrie  
Neurologie  
Radiologie  
Pédiatrie  
Médecine Interne  
Pédiatrie

## CHARGES DES COURS

Docteur Mme CISSE GAKOU  
Professeur N'Golo DIARRA  
Professeur Bouba DIARRA  
Professeur Salikou SANOGO  
Professeur Daouda DIALLO  
Professeur Bakary I.SACKO  
Professeur Yoro DIAKITE

Galénique  
Botanique  
Bactériologie  
Physique  
Chimie générale et Min.  
Biochimie  
Maths

Professeur Sidiki DIABATE	Bibliographie
Docteur Aliou KEITA	Galénique
Docteur Boubacar KANTE	Galénique
Docteur Souleymane GUINDO	Gestion
Docteur Mrs. Sira DEMBELE	Maths
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mrs Maiga Fatoumata SOKONA	Hygiène du milieu

### ASSISTANTS

Docteur Nouhoum ONGOIBA	Chirurgie
Docteur Saharé FONGORO	Néphrologie
Docteur Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Docteur Bénéoit KOUMARE	Chimie Analytique
Docteur Ababacar I.MAIGA	Toxicologie
Docteur Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

### CES

Docteur Georges YAYA(Centrafrrique)	Ophtalmologie
Docteur Abdou ISSA(Niger)	Ophtalmologie
Docteur Amadou DIALLO(Sénégal)	Ophtalmologie
Docteur Askia MOHAMED(Niger)	Ophtalmologie
Docteur Oumar BORE	Ophtalmologie
Docteur N'DJIKAM Jonas(Cameroun)	Ophtalmologie
Docteur DEZOUBE Djoro(Tchad)	Ophtalmologie
Docteur Aboubacrine A.MAIGA	Santé Publique
Docteur Dababou SIMPARA	Chirurgie générale
Docteur Mahamane TRAORE	Chirurgie générale
Docteur Mohamed Ag BENDECH	Santé Publique
Docteur Mamadou MAIGA	Dermatologie

### 2- ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Docteur Moussa Y.MAIGA	Gastro-entérologie
Docteur Bala COULIBALY	Pédiatrie
Docteur Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur Dapa Ali DIALLO	Hémato-Médec. Interne
Docteur Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Docteur Bah KEITA	Pneumo-phtisiologie
Docteur Hamar A.TRAORE	Médecine Interne

### D.E.R. DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

#### 1- PROFESSEURS AGREGES

Professeur Boubacar CISSE	Toxicologie
Professeur Arouna KEITA	Matières Médicales



## 2- MAITRES ASSISTANTS

Docteur Boulkassoum HAIDARA	Législ. Gest. Pharm.
Docteur Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur Ousmane DOUMBIA	Chef DER Sces Pharm.
Docteur Drissa DIALLO	Matières médicales

## D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

### 1- PROFESSEURS AGREGES

Professeur Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique(Chef DER)
Professeur Moussa A.MAIGA	Santé Publique
Professeur Hubert BALIQUE	Maître de conf. Santé Pub.

### 2- ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Bernard CHANFREAU	Santé Publique
Docteur Pascal FABRE	Santé Publique
Docteur Bocar G.TOURE	Santé Publique

## PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur J.P. BISSET	Biophysique
Professeur F. ROUX	Biophysique
Professeur G. FARNARIER	Physiologie
Professeur G. GRAS	Hydrologie
Professeur E.A. YAPO	Biochimie
Professeur Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Professeur Mamadou BADIANE	Pharmacie chimique
Professeur Issa IO	Législation

## PERSONNELS RESSOURCES

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Badi KEITA	H.G.T.
Docteur Antoine NIANAO	H.G.T.
Docteur Kassim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompere KONE	I.N.R.S.P.
Docteur Adama SANOGO	I.N.R.S.P.
Docteur BA Marie P.DIALLO	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy DICKO	P.M.I. SOGONIKO
Docteur Mohamed TRAORE	KATI
Docteur Arkia DIALLO	P.M.I. CENTRALE
Docteur Reznikoff	IOTA
Docteur TRAORE J. Thomas	IOTA
Docteur P. BOBIN	I. MARCHOUX
Docteur A DELAYE	H.P.G.

# SOMMAIRE

	PAGE
INTRODUCTION	
CHAPITRE I: GENERALITES SUR LE PALUDISME	
1-1- Epidémiologie.....	2
1-1-1- Agent pathogène.....	4
1-1-2- Agent vecteur.....	4
1-1-3- Réservoir de parasite.....	7
1-1-4- Cycle évolutif.....	8
1-1-5- Modalités épidémiologiques.....	10
1-2- Clinique.....	11
1-2-1- Tableaux cliniques.....	11
1-2-2- Spécificités cliniques des espèces.....	16
1-3- Diagnostic biologique.....	17
1-3-1- Arguments indirects.....	17
1-3-2- Arguments directs.....	18
CHAPITRE II: TRAITEMENT DU PALUDISME.....	20
2-1- Classification des médicaments.....	20
2-2- Monographie des antimalariques.....	23
2-2-1- Antimalariques testés lors de notre enquête... 23	
2-2-2- Autres médicaments antimalariques non testés lors de notre étude.....	30
2-3- L'Espoir vaccinal.....	32
CHAPITRE III: RESISTANCE.....	33
3-1- Définition.....	33
3-2- Historique de la chimiosensibilité.....	33
3-2-1- Constat des premiers cas de chimiorésistance aux antimalariques.....	33
3-2-2- Extension de la chimiorésistance de <i>Plasmodium falciparum</i> en Afrique.....	34
3-3- Mécanisme de la chimiorésistance de <i>Plasmodium falciparum</i> .....	36
3-3-1- Mécanisme d'action normale des antimalariques.. 36	
3-3-2- Mécanisme d'action mise en évidence dans la chimiorésistance.....	43
3-3-3- Génétique de la résistance.....	46

3-4- Techniques d'études.....	48
3-4-1- Les techniques <i>in vivo</i> .....	48
3-4-2- Les techniques <i>in vitro</i> .....	53
CHAPITRE IV: LE PALUDISME AU CONGO.....	57
4-1- Le Congo, géographie et administration.....	57
4-1-1- Aperçu géographique.....	57
4-1-2- Administration.....	58
4-2- Situation épidémiologique du paludisme au Congo.....	59
4-2-1- Les espèces plasmodiales.....	59
4-2-2- Les vecteurs.....	61
4-3- Situation de la chimiosensibilité du <i>Plasmodium</i> <i>falciparum</i> au Congo.....	63
CHAPITRE V: L'ENQUETE.....	67
5-1- Organisation.....	67
5-1-1- Personnel.....	67
5-1-2- Equipement.....	68
5-2- Réalisation.....	69
5-2-1- Lieu d'enquête.....	69
5-2-2- Population étudiée.....	69
5-2-3- Méthodologie.....	70
5-3- Résultats.....	74
CHAPITRE VI: DISCUSSION.....	85
CHAPITRE VII: CONCLUSIONS.....	93
BIBLIOGRAPHIE.....	95
ANNEXES.....	103

## **INTRODUCTION**

Le paludisme reste encore de nos jours l'une des premières maladies parasitaires au monde avec plus de 6 millions de malades traités annuellement pour un nombre de personnes infectées estimé à 300-500 millions(OMS 1993).

En Afrique au sud du Sahara, cette affection représente un motif majeur de consultation et d'hospitalisation et l'une des principales causes de décès des enfants de la tranche d'âge de 0 à 5 ans.

Parmi les causes de cette situation préoccupante, la baisse de sensibilité des souches de Plasmodium falciparum aux molécules antimalariques occupe assurément une place importante. Ce phénomène a motivé la mise en place par les Etats et les Centres spécialisés dans la plupart des pays touchés par le paludisme, des programmes de surveillance dont le but consiste à confirmer et à évaluer le niveau de résistance au moyen de différentes techniques.

Au Congo, cette surveillance est organisée périodiquement depuis 1985[Carme et coll. 1990]. L'enquête que nous présentons ici, réalisée dans le cadre des activités conjointes de l'INSSSA (Institut Supérieur des Sciences de la Santé), du Centre Hospitalier Universitaire de Brazzaville (CHUB) et du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) s'inscrit dans cette action de surveillance.

Après analyse bibliographique sur le paludisme et son traitement ainsi que les problèmes de résistance, nous resituerons le paludisme au Congo avant de nous intéresser à l'enquête 1993 et à ses résultats que nous discuterons.

## **CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE PALUDISME**

**Généralités sur le paludisme.**

Le paludisme, appelé malaria ou fièvre de marais, est une parasitose endémique dans les régions intertropicales du globe.

Cette parasitose est transmise chez le sujet sain par inoculation de l'agent pathogène, le Plasmodium, par un moustique femelle du genre anophèle.

L'O.M.S. et les Etats membres déploient depuis plusieurs décennies des efforts par la mise en place et l'intensification des programmes de lutte contre le paludisme. Malgré ces efforts, la situation du paludisme reste toujours préoccupante. Les figures 1 et 2 ci-dessous indiquent la dernière situation officielle du paludisme dans le monde.

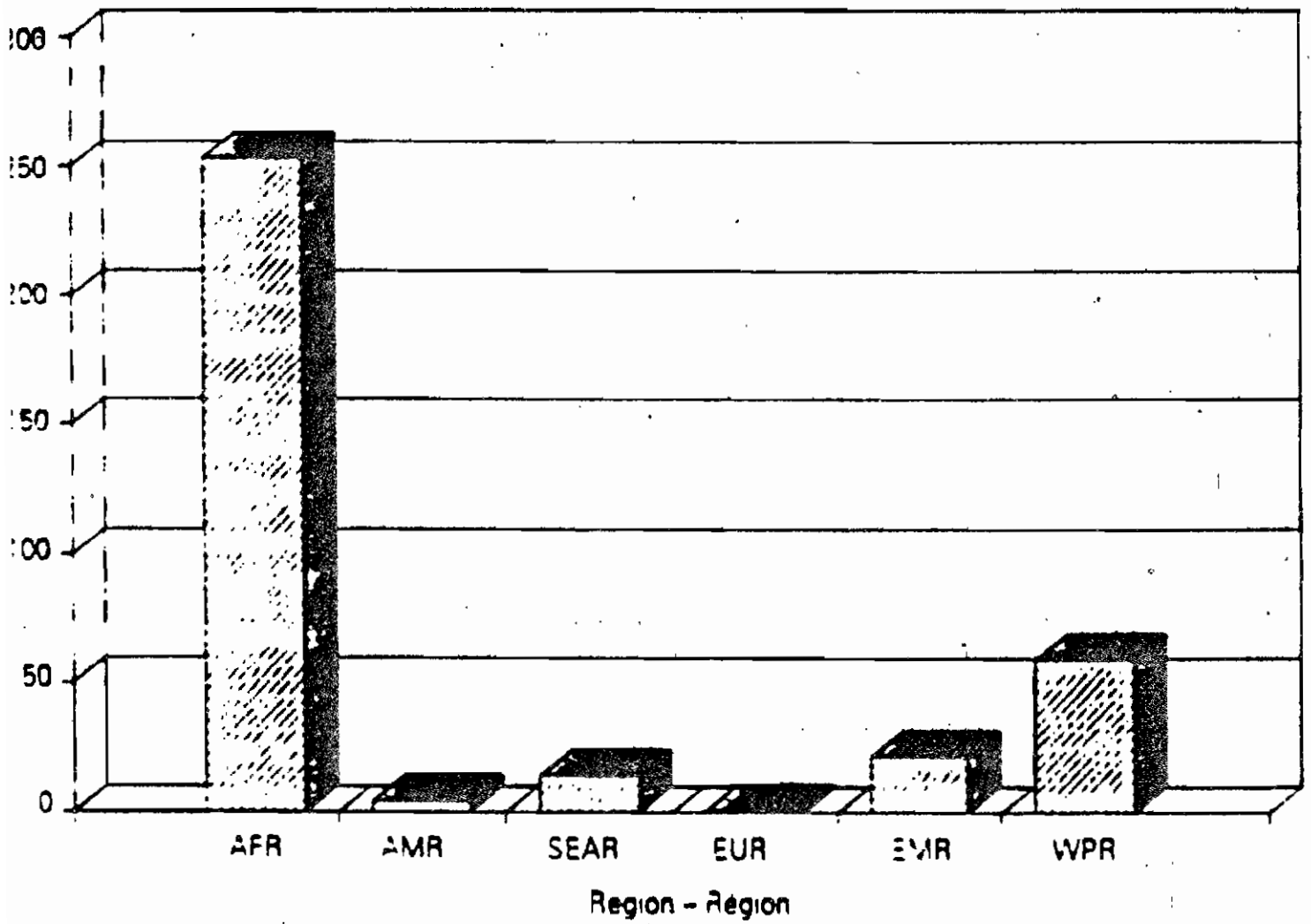
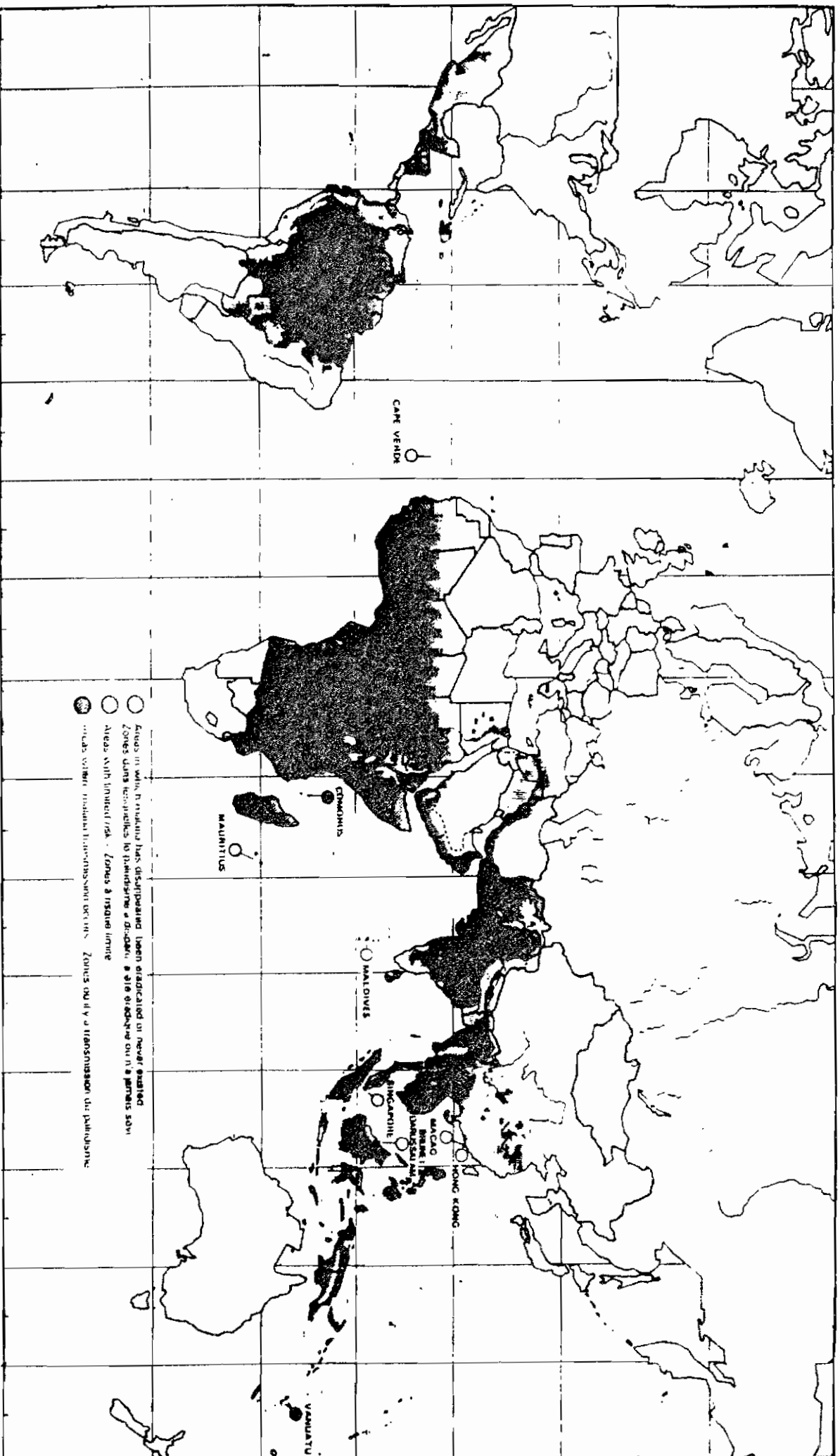


Figure 1: Estimation des nombres de cas de Paludisme signalés. par Région OMS, 1991 (OMS, 1993).





**FIGURE 2 : SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DE L'EVOLUTION DU PALUDISME, PAR REGION OMS, 1991**  
 ( Source OMS, 1993 )

## 1-1- Epidémiologie.

### 1-1-1- Agent pathogène.

De toutes les espèces plasmodiales repertoriées, seules quatre infectent l'homme et sont à l'origine du paludisme humain. Il s'agit des Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium ovale et Plasmodium malariae.

#### 1-1-1-1- Classification (Bruce - Chwatt, 1984/Garnham, 1966).

Dans la classification taxonomique internationale, ces parasites font partie de :

- l'embranchement des sporozoaires;
- l'ordre des hemosporidées;
- la classe des coccidies;
- la famille des plasmodies.
- le genre Plasmodium, qui se subdivise en deux sous genres à savoir:

- le sous genre Laveronia renfermant une seule espèce Plasmodium falciparum;

- le sous genre Plasmodium proprement dit renfermant trois espèces: Plasmodium ovale, Plasmodium vivax et Plasmodium malariae.

#### 1-1-1-2- Morphologie et biologie (Gentilini 1993).

Les quatre espèces plasmodiales possèdent chacune des caractéristiques morphologiques et biologiques particulières qui les distinguent les unes des autres (figure 3).

##### 1-1-1-2-1- Plasmodium falciparum.

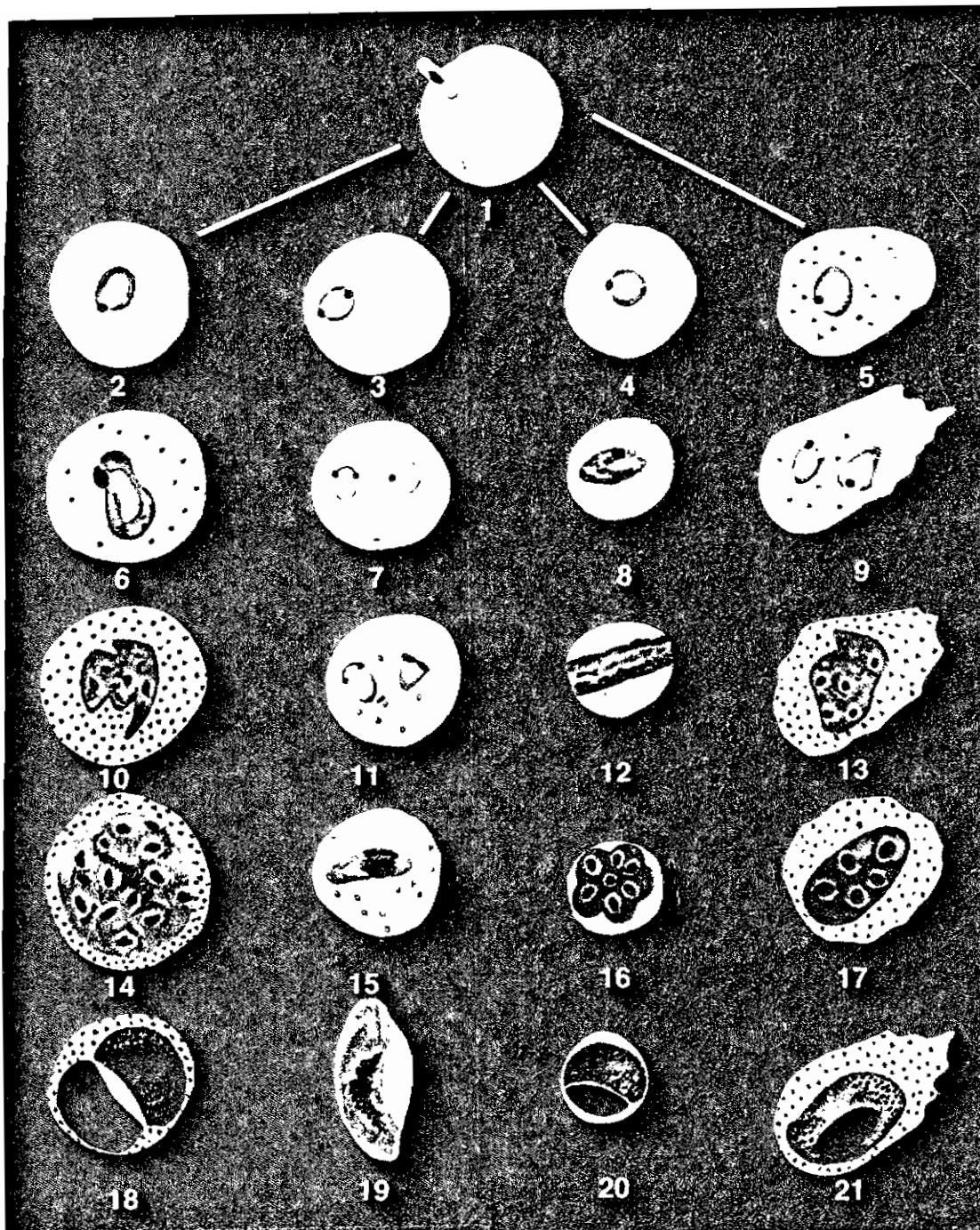


Figure 3 - Aspect schématique des plasmodies humaines  
 (D'après GENTILINI, 1993)

n.B. Les indications de cette figure se trouvent à l'annexe 3

Plasmodium falciparum est répandu dans les régions équatoriale et intertropicale où il est l'espèce dominante excepté dans les zones d'altitude. Les sujets infectés par Plasmodium falciparum ne font pas de rechute tardive. Le cycle hépatique du Plasmodium falciparum est d'une durée moyenne de 5,5 jours. Sa durée moyenne de vie dans l'organisme humain est estimée à 3 mois pouvant s'étendre exceptionnellement à 6-12 mois. Ce plasmodium a comme particularité de:

- infecter l'hématie quelque soit son âge pouvant occasionner ainsi des fortes parasitémies de 40-50 %;
- posséder des gamétocytes falciformes;
- développer des schizontes endoérythrocytaires et des corps en rosace dans les capillaires viscéraux.

D'un point de vue cytologique, l'hématie parasitée:

- garde sa taille;
- présente souvent un polyparasitisme;
- contient des granulations grossières et peu abondantes appelées tâches de Maurer ou Stephens Christophène.

#### 1-1-1-2-2- Plasmodium vivax.

Il est localisé sur un territoire beaucoup plus vaste que celui du Plasmodium falciparum. Ce territoire s'étend du 40<sup>ème</sup> degré de latitude nord au 40<sup>ème</sup> degré de latitude sud. Plasmodium vivax est l'espèce exclusive des régions tempérées. Il n'infecte pas les sujets de race noire car ces derniers sont dépourvus du facteur Duffy qui serait localisé sur la membrane des hématies assurant le rôle de récepteur du Plasmodium vivax indispensable à

l'infection.

La longévité hépatique du Plasmodium vivax est de 15 jours à 9 mois, ce qui explique les possibilités de rechute tardive qu'occasionne cette espèce. Par ailleurs, le Plasmodium vivax n'infecte que les hématies jeunes et les reticulocytes, ce qui justifie les parasitémies modérées ne dépassant pas 2 % que présente les sujets infectés par cette espèce.

L'observation cytologique d'une hématie parasitée révèle:

- une augmentation du volume cellulaire associée à une paleur de l'hématie;
- la présence dans le cytoplasme de nombreuses petites granulations appelées granulations de Schuffner.

#### 1-1-1-2-3- Plasmodium ovale.

C'est le plus rare des 4 espèces plasmodiales. Il se rencontre presque exclusivement en Afrique là où Plasmodium vivax (espèce très proche) est absent. Plasmodium ovale parasite les hématies jeunes qui prennent la forme ovale (avec parfois l'extrémité dentelée), ce qui lui a valu son nom.

On observe chez les hématies parasitées:

- une augmentation de leur volume;
- la présence des granulations de Schuffner, plus grosses que celles observées chez les hématies parasitées par Plasmodium vivax.

Dans cette infection la parasitémie est en général très faible.

#### 1-1-1-2-4- Plasmodium malariae.

Cette espèce est de distribution clairsemée. Plasmodium malariae se développe dans les vieilles hématies. Le sujet infecté présente en général une faible parasitémie dépassant rarement 2 %.

L'observation cytologique d'une hématie parasitée fait apparaître:

- une diminution de la taille;
- une conservation de couleur(monochrome);
- un trophozoite âgé en forme de bande équatoriale ou de drapeau;
- une granulation très fine et difficile à percevoir au niveau du cytoplasme qu'on appelle granulation de Zeima.

#### **1-1-2- Agent vecteur.**

Sur les 400 espèces d'anophèle repertoriées au monde, seule une soixantaine est impliquée dans la transmission dans les conditions naturelles du paludisme. Ce sont plus précisément les femelles de ces dernières qui sont les agents vecteurs du paludisme. En effet, contrairement aux mâles qui se nourrissent de suc de végétaux, les femelles quant à elles se nourrissent de sang dont elles tirent des protéines indispensables à la fécondation des oeufs. C'est lors de ces repas sanguins que ces femelles inoculent l'agent pathogène contenu dans leur salive.

#### **1-1-3- Réservoir de parasite.**

Le seul réservoir de parasite pour le plasmodium responsable du paludisme humain est l'homme porteur de gamétocytes. Ce réservoir est responsable du maintien de l'endémicité.

Comparativement aux adultes, les enfants sont considérés comme un réservoir plus important de parasite. En effet, les enfants sont plus fréquemment porteurs des gamétocytes que les adultes.

**1-1-4- Cycle évolutif(Desfontaine,1990a /Gentilini,1993 /Mazier, 1991).**

Le cycle évolutif du plasmodium humain (figure 4) nécessite pour sa réalisation deux hôtes:

- l'un intermédiaire. On entend par hôte intermédiaire, l'hôte qui héberge la forme asexuée du parasite;
- l'autre définitif. On entend par hôte définitif l'hôte qui héberge la forme sexuée du parasite.

Contrairement à l'idée que se font beaucoup de personnes, il découle de ces définitions des différents types d'hôtes, que c'est l'homme qui constitue l'hôte intermédiaire et le moustique l'hôte définitif dans le cycle évolutif du plasmodium humain. Ce cycle comprend deux stades évolutifs, un sexué et un autre asexué.

**1-1-4-1- Le stade asexué ou schizogonique.**

Il se déroule uniquement chez l'homme précisément au niveau du foie et au niveau du sang.

**A- Au niveau du foie.**

Lors de son repas sanguin, l'anophèle femelle inocule à l'homme des sporozoïtes (formes infestantes). Ceux ci une fois dans l'organisme, infectent les cellules hépatiques (hépatocytes) et se transforment en trophozoïtes hépatiques. A cette étape évolutive, deux situations sont possibles car il peut se produire:

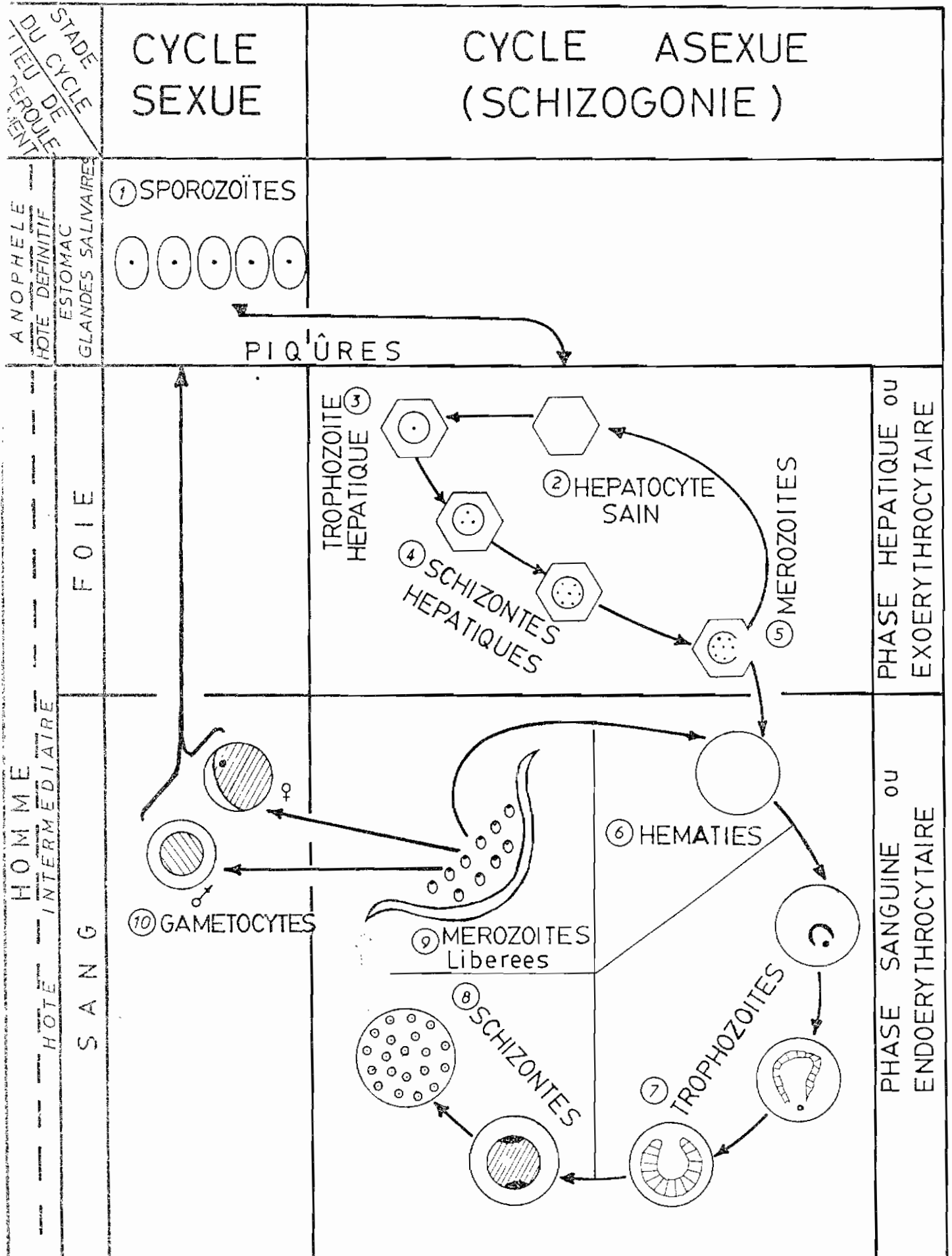


FIGURE 4: CYCLE EVOLUTIF DU PLASMODIUM HUMAIN



a) un blocage de la maturation du trophozoïte.

Dans cette première situation, le trophozoïte connaîtra un état de pose biologique à l'origine plusieurs mois plus tard de cas de rechute palustre (P. ovale, P. vivax). Ce type de trophozoïte porte le nom d'hypnozoïte.

b) une maturation du trophozoïte.

Dans cette deuxième situation, le trophozoïte va alors se transformer en un gros schizonte hépatique contenant plusieurs dizaines ou centaines de mérozoïtes assurant ainsi la phase hépatique encore appelée exoérythrocytaire découverte en 1948 par Shortt et Garnham.

Il convient de signaler que la phase hépatique est cliniquement silencieuse.

B- Au niveau du sang.

C'est la phase découverte en 1880 par Laveran et appelée sanguine ou endoérythrocytaire.

Les mérozoïtes provenant de l'éclatement des schizontes du foie vont pénétrer dans les hématies. A l'intérieur des hématies infectées, les mérozoïtes d'allure filiforme et de très petites tailles vont se munir d'une vacuole nutritive se transformant ainsi en un trophozoïte. A l'état jeune, ce trophozoïte ressemble à une bague à chaton et c'est en grandissant qu'il prend la forme caractéristique de l'espèce (confère caractères parasitologiques des plasmodium humain) [figure 3]. Une fois âgé, le trophozoïte va subir des divisions pour donner des schizontes. Ces derniers se transformeront après maturation en rosaces, lesquelles éclateront

pour libérer les mérozoïtes qui vont infecter d'autres hématies (saines). Puis vont:

a) certains perpétuer la phase sanguine ou endoérythrocytaire en refaisant un cycle complet;

b) d'autres subir une transformation en gamétoocyte, initiant ainsi la gamétocyto-genèse.

#### 1-1-4-2- Le stade sexué ou sporogonique.

Découvert en 1895 par Ross, ce stade débute dans le sang du sujet infecté grâce à la gamétocyto-genèse et il n'évoluera que lorsqu'il y aura repas sanguin par l'anophèle femelle. De tous les éléments du sang ingérés, seuls les gamétoocytes vont résister à la digestion au niveau de l'estomac de l'anophèle femelle. Ces gamétoocytes subiront des transformations donnant lieu à des gamètes femelles dont la fusion est à l'origine de la formation d'un ookinette (oeuf) qui s'entourera d'une membrane pour s'appeler oocyste (kyste). Dans ces oocystes se formeront les sporozoïtes (formes infestantes) qui migreront de l'estomac vers les glandes salivaires pour être ensuite inoculés par piqûre de l'anophèle femelle chez un individu sain.

#### **1-1-5- Modalités épidémiologiques (Baudon et coll, 1991).**

##### 1-1-5-1- Transmission.

La transmission de cette affection en zone d'endémie palustre n'est pas homogène. Suivant les régions, la transmission peut être:

- permanente ou saisonnière;
- continue ou discontinue;

- stable ou instable suivant qu'elle présente ou ne présente pas des variations significatives d'une saison à une autre, également d'une année à une autre.

#### 1-1-5-2- Indices paludométriques chez l'homme.

Les indices d'endémicité chez l'homme sont au nombre de trois:

a) Indice splénique: c'est la proportion d'enfants âgés de 2 à 10 ans présentant une rate hypertrophiée.

Cette définition permet de distinguer 4 zones d'endémicité palustre, à savoir:

- les zones hypoendémiques avec les proportions de 0- 10 %;
- les zones mesoendémiques avec les proportions de 11-50 %;
- les zones hyperendémiques avec les proportions de 50-75 %;
- les zones holoendémiques avec les proportions supérieures à 75 %.

b) Indice plasmodique: c'est la proportion de sujets d'une population examinée présentant les hématozoaires dans le sang quelque soit le stade parasitaire.

c) Indice gamétocytaire: c'est le pourcentage des sujets porteurs de gamétocytes.

#### 1-2- Clinique(Danis, 1991a).

##### **1-2-1- Les tableaux cliniques.**

La clinique du paludisme dépend de trois facteurs suivants:

- l'espèce plasmodiale;
- l'intensité de la transmission;
- l'immunité anti-palustre.

Elle peut évoluer chez le malade suivant l'un des tableaux ci-dessous:

1-2-1-1- Le paludisme de primo-invasion.

Le paludisme de primo-invasion se rencontre chez des sujets neufs qui sont les petits enfants et les personnes non immunisées arrivant en zone d'endémie.

L'incubation est asymptomatique, par contre l'évolution de la maladie (période d'état) est marquée par l'apparition des symptômes dominés par la fièvre. A ceci peut s'associer:

- un embarras gastrique;
- des céphalées;
- une asthénie.

Le paludisme de primo-invasion est bénin, toutefois, il peut évoluer à tout moment vers l'accès pernicieux lorsque il s'agit de P. falciparum.

1-2-1-2- Accès palustre de reviviscence.

On observe chez le malade, une succession de phases:

- une phase de frissons accompagnée de fièvre avec une température se situant en moyenne à 39 degrés Celsius. Cette fièvre est souvent associée d'une hypertrophie de la rate et d'une hypotension;

- une phase de chaleur, le corps est brûlant avec des températures atteignant 40 à 41 degrés Celsius;

- une phase de sueur, le malade sue en abondance et fait les urines foncées puis connaît une baisse brutale de la température avec une légère tendance à l'hyperthermie.

Celle-ci sera suivie d'une normalisation des signes et le malade connaîtra une sensation de bien-être. Il faut souligner que le type de fièvre observé dans ce tableau sera fonction de l'espèce responsable du paludisme. Il est bien marqué avec les 3 espèces "mineures": P. ovale, P. malariae, P. vivax.

#### 1-2-1-3- Splénomégalie tropicale.

Elle se déroule chez l'adulte et se manifeste par:

- une splénomégalie;
- une altération de l'état général;
- une élévation des taux d'anticorps antipalustres.

#### 1-2-1-4- Paludisme viscéral évolutif.

Appelé encore paludisme chronique, il se rencontre chez les enfants insuffisamment ou non prémunis qui ne sont pas soumis à un traitement préventif et subissent des infestations répétées. Trois grands signes le caractérisent, qui sont:

- l'anémie souvent intense;
- la splénomégalie de volume variable;
- la fièvre qui est modérée.

Lorsque le paludisme viscéral évolutif est bien traité, la guérison est rapide et spectaculaire.

#### 1-2-1-5- L'Accès pernicieux.

L'Accès pernicieux est la complication clinique de l'accès palustre simple à Plasmodium falciparum.

Cette complication est fréquente en zone d'endémie et survient le plus souvent au cours de la primo-invasion chez les adultes récemment arrivés en zone d'endémie après un long séjour dans une

zone non endémique, ainsi que chez les jeunes enfants de 6 mois à 6 ans (en général pas soumis à une chimioprophylaxie). En effet, les groupes de sujets sus-mentionnés sont des victimes désignés du fait qu'ils sont dépourvus de l'immunité antipalustre.

Il convient d'indiquer que l'accès pernicieux constitue la seule urgence parasitologique du paludisme. Mal traité ou en absence de traitement, l'issue est fatale en 24-72 heures. Cette nature maligne de l'accès pernicieux explique l'intérêt porté sur ce stade clinique et par conséquent sur P. falciparum, espèce responsable de cette complication.

L'apparition de l'accès pernicieux peut être progressive ou brusque quelque soit le type de cette apparition. L'accès pernicieux évolue vers une phase d'état dominée par trois signes cliniques:

- la fièvre;
- les troubles viscéraux;
- les troubles neurologiques.

a) Fièvre: il s'agit d'une fièvre pouvant atteindre 40 à 41 degrés celsius.

b) Troubles viscéraux:

\* Hépatosplénomégalie: deux fois sur trois dans l'accès pernicieux, on note l'absence de splénomégalie (signe de bon pronostic rencontré dans l'accès simple), par contre, on note plus fréquemment la présence d'hépatosplénomégalie (signe de mauvais pronostic).

\* Anémie: elle fait suite à une forte hémolyse ainsi qu'à des troubles immunitaires associés à une thrombopénie au début de l'accès pernicieux. Elle constitue un facteur aggravant des signes neurologiques et contribue en partie à l'origine des troubles cardiologiques. Elle est un signe de mauvais pronostic.

c) Troubles neurologiques: ces troubles dominent le tableau clinique de l'accès pernicieux. Ils se manifestent par:

- les troubles de conscience;
- les convulsions (survenant fréquemment chez les enfants);
- les troubles du tonus, moins fréquents et généralement confondus avec les crises tétaniques fréquentes en zone tropicale;
- les paralysies (rares);
- les modifications des reflexes ostéo-tendineux considérées comme un signe de mauvais pronostic (signe de Le Dantec);
- les troubles méningés (assez fréquents).

La manifestation de l'accès pernicieux peut se dérouler suivant l'une des formes cliniques ci-après:

- forme coma fébrile autrement appelé neuropaludisme. Celle-ci est la forme typique de l'accès pernicieux.
- formes neurologiques sans coma;
- formes bilieuses où l'ictère domine;
- formes cholériques associées de diarrhée profuse;

## 1-2-2- Spécificité clinique selon les espèces.

### 1-2-2-1- Plasmodium falciparum.

Cette espèce est redoutable. Elle est à l'origine des fièvres ayant la particularité d'être tierce maligne. C'est la seule espèce qui est à l'origine de l'accès pernicious qui est mortel.

### 1-2-2-2- Plasmodium vivax.

Le paludisme à P. vivax n'est pas létal. Il est marqué par une fièvre tierce benigne. Chez les enfants insuffisamment ou pas prémunis, le P.vivax peut occasionner un paludisme viscéral évolutif moins grave que celui du P.falciparum.

### 1-2-2-3- Plasmodium ovale.

Cette espèce est de moindre importance clinique. Elle occasionne des fièvres tierces bénignes.

### 1-2-2-4- Plasmodium malariae.

Les malades infectés par cette espèce présentent une fièvre quarte. Il est important dans cette infection de porter une attention sur la fonction renale qui est généralement atteinte avec l'éventualité d'aboutir à une néphropathie.

### 1-2-2-5- Associations de plusieurs espèces.

Elles sont fréquentes en zone d'endémie et elles perturbent les tracés thermiques donnant des doubles tierces ou des doubles quartes.



### 1-3- Diagnostic biologique.

Le diagnostic du paludisme peut être fait par des arguments indirects ou directs. Les premiers sont moins importants et parfois non spécifiques de la maladie. Ils peuvent laisser présager un cas de paludisme ou confirmer une infection passée. Les seconds devant un paludisme présumé confirment le diagnostic de certitude.

#### **1-3-1- Arguments indirects.**

##### 1-3-1-1- Hémogramme.

Il est généralement observé:

- une anémie de type hémolytique;
- une modification de façon variable de la leucocytose;
- parfois une hypoplaquetose observée dans les accès sévères à P.falciparum et dans le paludisme viscéral évolutif (ou paludisme chronique).

##### 1-3-1-2- Sérologie.

La sérologie trouve son intérêt dans les zones non endémiques.

Elle utilise les techniques immunologiques par le dosage d'anticorps antipalustres. Cet examen ne peut pas dans le diagnostic du paludisme remplacer l'examen parasitologique du sang sur frottis ou sur une goutte épaisse mais plutôt suppléer ce dernier:

- en banque de sang pour le dépistage des donneurs de sang potentiellement dangereux;
- pour expliquer l'étiologie des fièvres au long court en cas de défaillance de l'examen parasitologique.

1-3-1-3- Dosages biochimiques.

Lors des paludismes aigus, il est souvent observé:

- une élévation de la lactate deshydrogenase (LDH) et de la glutamate pyruvate transaminase;
- un rapport albumine/globuline fortement abaissé;
- une augmentation des triglycerides et une diminution du cholestérol les premiers jours.

1-3-2- Arguments directs.

Cet argument permet d'effectuer le diagnostic direct du paludisme, ce par la mise en évidence du parasite dans le produit pathologique qui est le sang. Cette mise en évidence est réalisée au moyen de 2 techniques à savoir, la technique de la goutte épaisse et celle du frottis mince.

1-3-2-1- Réalisation des 2 techniques(cf. Annexe 1).1-3-2-2- Recherche parasitaire (lecture et interprétation).

La recherche du parasite sur lame colorée dans les deux techniques se fait au microscope à un grossissement 100 à immersion (x 1000). Au cours de cette recherche l'examen est dit:

- négatif, en absence de parasite sur un nombre de champs examinés que l'on aura fixé au départ tant pour le frottis que pour la goutte épaisse;
- positif, en présence d'au moins un parasite. Dans cette éventualité (dans ce cas), il est nécessaire d'identifier l'espèce et de procéder à une approche quantitative.

1-3-2-3- Avantages et inconvénients de chacune des deux techniques.

La goutte épaisse est une technique de concentration des éléments du sang sur une surface réduite, ce qui permet d'obtenir un gain de sensibilité d'environ 20 fois supérieur à celle de la technique du frottis. La réalisation de cette technique nécessite une destruction des globules rouges du sang lors de la défibrination, ce qui a pour conséquence de rendre difficile l'identification de l'espèce impliquée dans l'infestation.

Le frottis mince par contre permet quant à lui une conservation des hématies, ce qui rend l'identification de l'espèce plus aisée car en plus du parasite qui n'est pas détruit, les autres éléments caractéristiques de l'espèce au niveau de l'hématie parasitée sont également conservés./.

**CHAPITRE II : TRAITEMENT DU PALUDISME.**

L'humanité ne possède pas encore de nos jours un vaccin permettant de prévenir et d'éradiquer le paludisme. Dans l'attente de ce vaccin qui tarde à venir et dont l'utilisation n'est pas prévue avant la fin de ce siècle, le traitement préventif de cette parasitose se fait et se fera par chimioprophylaxie. Le traitement curatif quant à lui se repose et se reposera toujours sur l'administration des antimalariques souvent associés à d'autres types de médicaments dans les cas graves.

## 2-1- Classification des médicaments(Danis,1991b. Verdier et coll,1986. Wallace,1993).

Divers critères peuvent être retenus pour établir une classification des antimalariques. Dans la présente étude, on retiendra comme critères:

1- Le point d'impact du médicament sur l'un des stades du cycle évolutif: ce critère permet de dégager deux grands groupes d'antimalariques:

a) les schizontocides qui sont des antimalariques agissant sur les formes asexuées du stade endoérythrocytaire du paludisme;

b) les gamétocides qui sont les antimalariques agissant sur les formes hépatiques et les gamétocytes chez l'homme.

2- L'origine du principe actif: on distingue deux origines, à savoir:

a) une origine naturelle essentiellement végétale;

b) une origine synthétique.

3- La caractéristique des actions: ce critère permet de grouper les molécules antimalariques suivant leur vitesse d'action.

Ainsi, on distinguera des molécules d'action rapide et des

molécules d'action lente.

4- La famille chimique.

Les 4 critères ci-dessus énumérés ont permis d'adopter la classification telle qu'elle est mentionnée dans le tableau I. Il convient de signaler que cette classification n'est pas exhaustive des molécules antimalariques existantes. Elle ne prend pas en compte les molécules susceptibles d'avoir une action antimalarique accessoire telle que certains antibiotiques comme les macrolides, les cyclines, la clinodamycine et le chloramphenicol. Tous ces antibiotiques expriment leur action antimalarique en inhibant au niveau du ribosome 70 S des mitochondries plasmodiales, la synthèse des protéines. L'action de ces antibiotiques est lente.

Principale action	Caractéristiques de l'action	Origine du principe actif	Groupes chimiques du principe actif	Produits	
				DCI	Spécialités
Schizontocides	Action Rapide	Naturelle	Alcaloïde du Quinquina	quinine	Quinine Lafan* Quinoforme* Quinimax*
			Sesquiterpène-lactone	qinghaosu (artémisine)	
		Synthétique	Amino-4-quinoléine	chloroquine	Nivaquine* Resochine* Aralen* Avlochor*
				amodiaquine	Flavoquine* Camoquine*
	amino-aryl-Alcool		mefloquine	Lariam* Mephaquine*	
			halofantrine	Halfan*	
	Action Lente	Antifolique	sulfone		
			sulfamide		
		Antifolinique	proguanil	Paludrine*	
			pyriméthamine		
		Associations	pulfadoxine-pyriméthamine	Fansidar*	
sulfadoxine/pyriméthamine mefloquine	Fansimef*				
dapsone/pyriméthamine	Maloprim*				
Amétocides			amino-8-Quinoléine	primaquine	Primaquine*

Tableau I: Classification des molécules antimalariques.

## 2-2- Monographie des antimalariques.

### 2-2-1- Antimalariques testés lors de notre enquête.

#### 2-2-1-1- Quinine.

##### 2-2-1-1-1- Structure.



2-2-1-1-2- Aspects chimiques importants: la quinine est un alcaloïde naturel extrait du quinquina. Sa structure peut être subdivisée en 3 grandes parties:

- 1- Un noyau quinoléine avec un substituant méthoxy en position 6;
- 2- Un noyau quinuclidine auquel est rattaché un groupement Vinyl (-CH=CH<sub>2</sub>);
- 3- Un groupe hydroxyméthyl.

Cette structure fait apparaître deux atomes d'azote basique de  $pK_{a1} = 5,07$ ,  $pK_{a2} = 9,7$  qui font de la quinine une base bivalente faible, donc capable de fournir 2 types de sels qui sont:

a) Les sels basiques dont un seul azote est salinifié en solution acide. Ils sont moins nécessaires, ce qui justifie leur préférence dans l'utilisation en pharmacie sous forme de chlorure basique, de sulfate basique et de formate basique. Son inconvénient dans la pratique est sa faible solubilité dans l'eau.

b) Les sels neutres dont les deux atomes d'azote sont salinifiés. Ils ont ainsi deux équivalents acides. Ces sels sont beaucoup plus solubles que les sels basiques. Ils sont utilisés en médecine sous forme de disulfate et de dichlorhydrate.



2-2-1-1-3- Présentation: le produit officinal est la quinine base sous forme d'hydrate de quinine utilisée sous plusieurs formes galéniques (comprimés, solution injectable, suppositoires, etc...). En pharmacie, on la trouve principalement sous trois noms de spécialité qui sont:

a) Quinimax\*, qui est une combinaison des principaux alcaloïdes du quinquina additionnés à un dérivé phenilique actif, se présente sous forme de:

- comprimé dosé à 100 mg de sel;

- suppositoires dosés à 0,15 g pour les enfants et 0,25 g pour les adultes;

- solution injectable dans les ampoules de 1 ml (dosée à 0,1 g), 2 ml (dosée à 0,2 g) et 4 ml (dosée à 0,4 g).

b) Quinoforme\*, qui est le formiate basique, est présenté uniquement sous la forme injectable dans les ampoules de 2 ml dosées à 500 mg de base.

c) Quinine Lafran\*, qui est le sulfate, se présente sous la forme comprimé dosé à 0,25 et 0,5 g.

2-2-1-1-4- Pharmacologie: l'administration per os de la quinine est suivie d'une absorption rapide et presque quasi totale (95 %) du produit dans le tube digestif, précisément au niveau de la partie supérieure de l'intestin. Dans le sang, la concentration maximum du produit est atteinte 1 à 3 heures après une prise unique. La demi-vie plasmatique varie de 10 à 20 heures, ce qui justifie les prises répétées en moyenne tous les 8 heures soit 3 fois par jour.

La quinine pénètre sans problème dans les hématies mais elle est très peu retenue (environ 1/5 ème seulement de la concentration plasmatique). La métabolisation de la quinine se fait en grande partie dans le foie (environ 80 %) d'où elle est éliminée par la bile dans les selles (5 %). Le reste, soit les 20 % est éliminé intact dans les urines.

2-2-1-1-5- Mode d'administration et posologie: la quinine est le produit de choix en administration parentérale dans le traitement des urgences et des formes graves du paludisme. Cette administration parentérale de la quinine doit être faite par injection intraveineuse en perfusion lente selon le schéma suivant:

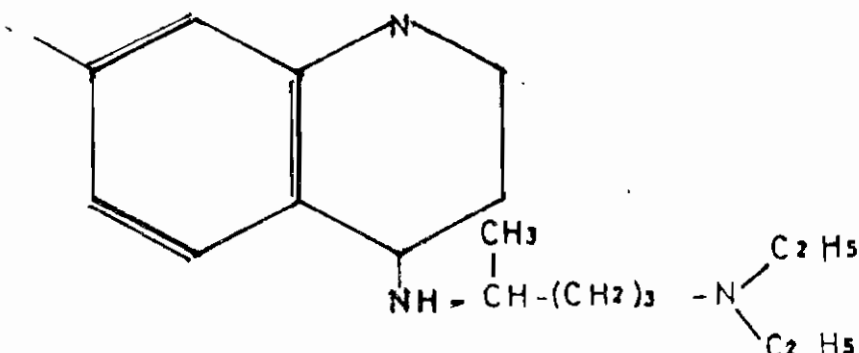
- un traitement d'attaque par administration de 16 mg de quinine base/kg de poids corporel dilués dans un soluté physiologique. Ce traitement dure 4 heures;

- un traitement d'entretien par administration de 8 mg de quinine base/kg de poids corporel toutes les 8 heures pendant 5 à 7 jours.

Il convient d'indiquer qu'il est formellement déconseillé d'administrer la quinine par injection intramusculaire du fait des risques, notamment des infections aboutissant à des necroses et des infirmités des membres inferieurs dont elle est souvent responsable

### 2-2-1-2- Chloroquine.

#### 2-2-1-2-1- Structure.



CHLORO 7 (DIETHYL AMINO 4'  
METHYL 1' BUTYL AMINE ) 4  
QUINOLEINE

2-2-1-2-2- Aspects chimiques importants: la chloroquine possède 2 atomes d'azote basique de  $pK_{a1} = 10,2$  et  $pK_{a2} = 8,1$  dont la présence est indispensable à l'expression de son activité biologique. L'atome de chlore rattaché au noyau quinoléine en position 7 constitue également un élément clé de cette activité. La simple substitution par un atome d'hydrogène entraînerait une chute de plus de 90 % de ses propriétés antimalariques.

2-2-1-2-3- Présentation: la chloroquine est consommée en médecine humaine sous deux formes chimiques qui sont la forme sulfate et la forme phosphate. La forme la plus utilisée est le sulfate neutre de chloroquine commercialisé sous le nom de spécialité Nivaquine\*. La Nivaquine\* est présentée sous les formes galéniques suivantes:

- en comprimé de couleur blanche et de goût amer dosé soit à 100 mg, ou à 300 mg;
- en sirop dosé 5 mg/ml d'utilisation pédiatrique;
- en injection dans les ampoules de 2 ml dosée à 100 mg, 200 mg et 400 mg.

Il existe également un dérivé, hydroxy commercialisé sous le nom de spécialité Plaquenil\*.

La forme diphosphate est en présentation générique disponible sous plusieurs appellations dont Aralen\*, Resochin\* généralement dosé à 150 mg.

2-2-1-2-4- Posologie: les doses curatives généralement préconisées sont:

- Per os: d'après l'OMS, elle est de 25 mg/kg répartis en 3 jours avec une dose de 10 mg/kg/jour les 2 premiers jours et 5 mg/kg/jour

le dernier jour;

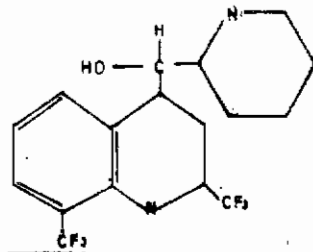
- Par voie parentérale, 2,5 à 3,5 mg/kg toutes les 6 heures en intramusculaire ou en sous cutanée à manier avec précaution.

Les doses prophylactiques sont 10 mg/kg/semaine.

2-2-1-2-5- Pharmacologie: l'administration de la chloroquine est suivie d'une absorption estimée à 70 % de la dose administrée. Consécutivement à une prise en dose unique de chloroquine, on obtient en 2 heures la concentration plasmatique maximum pour une durée de demie vie réelle de 6 à 8 jours. Ces données pharmacocinétiques permettent de justifier l'obtention rapide des concentrations efficaces et leur maintien pendant une semaine lors de l'utilisation des doses curatives. En revanche, aux doses prophylactiques, des prises répétées durant une semaine semblent nécessaires pour atteindre les concentrations sanguines protectrices. Le volume de distribution dans l'organisme est important. La chloroquine est métabolisée à près de 30 % par le foie en désethylchloroquine, puis subit une élimination biliaire par les feces. La chloroquine restante demeure inchangée dans le plasma et les autres tissus mais peut connaître des modifications au niveau de la chaîne latérale alcoylamine et produire des métabolites. Le produit est ensuite excrété dans les urines près de 56 % où on le trouve sous forme inchangée (60 - 70 %) d'amine secondaire (23 à 37 %) et d'amine primaire (3 %).

### 2-2-1-3- Mefloquine.

#### 2-2-1-3-1- Structure.



« ( 2 PIPERIDYL ) 2,8 DI (TRIFLUORO-  
METHYL ) 4 QUINOLEINE  
METHANOL

**Remarque:** Cette molécule antimalarique  
a une structure chimique proche de la  
quinine

2-2-1-3-2- Présentation: les spécialités de la méfloquine sont disponibles sous une seule forme comprimé dosé à 250 mg et à 50 mg de base.

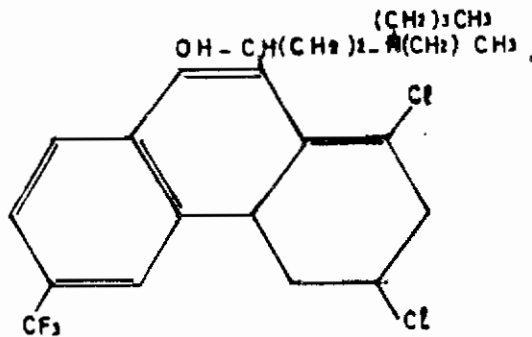
2-2-1-3-3- Posologie: la dose journalière de la méfloquine est de 1,5 g répartis en trois prises pendant 3 à 4 jours. Cette posologie permet d'atténuer les intolérances observées lors des phases expérimentales par l'administration d'une prise unique de 1 gramme. Ces intolérances se sont manifestées par des vertiges, des nausées et des vomissements et peuvent dans certains cas aboutir à des troubles neuropsychiques. En prophylaxie, la dose administrée est de 4 mg/kg/semaine soit 1 comprimé/semaine.

2-2-1-3-4- Pharmacologie: l'administration per os de la méfloquine est suivie d'une absorption correcte du produit. Les concentrations maximum du produit sont atteintes dans le plasma en 4 - 16 heures après administration d'une prise unique. En revanche, la concentration nécessaire à l'action schizonticide est atteinte dans la plupart des cas avant la 6<sup>ème</sup> heure et persiste près de 30 jours dans le plasma. La distribution de la méfloquine dans l'organisme est importante.

Elle est métabolisée par le foie où elle subit un cycle enterohépatique. Son temps de demie vie est important et estimé en moyenne à 21 jours quoique variable d'un individu à l'autre (8-28 jours). L'élimination se fait par voie biliaire(90 %) et rénale (10 %).

#### 2-2-1-4- Halofantrine.

##### 2-2-1-4-1- Structure.



2-2-1-4-2- Présentation: les formes galéniques de l'Halfan\* actuellement disponibles sont:

- la forme comprimé dosé à 250 mg de chlorhydrate d'halofantrine, soit 233 mg de base;

- la forme suspension dosée à 100 mg de chlorhydrate pour 5 ml de suspension, soit une suspension à 2 % utilisée en pédiatrie.

2-2-1-4-3- Posologie: elle est de 500 mg soit 2 comprimés toutes les 8 heures chez l'adulte et chez l'enfant de moins de 40 kg, la dose journalière est de 24 mg/kg répartie en 3 prises.

2-2-1-4-4- Pharmacologie: l'halofantrine est d'absorption rapide et limitée bien que cela soit variable d'un individu à l'autre. La concentration maximum dans le sang est obtenue 6 à 7 heures après une prise unique.

Les concentrations sanguines triplent après un repas riche en lipide comparativement aux concentrations à jeun.

L'halofantrine est essentiellement métabolisé par le foie donnant des métabolites dont le principal est la N. desbutylhalofantrine ayant un temps de demie vie plasmatique supérieur (3-5 jours) à celui de l'halofantrine (20 à 40 heures). L'élimination est uniquement biliaire.

**2-2-2- Autres médicaments antimalariques non testés lors de notre étude.**

**2-2-2-1- Association sulfadoxine-pyriméthamine.**

Elle est la plus ancienne et la plus utilisée des associations des molécules antimalariques faisant partie des associations stables. Elle est commercialisée sous le nom de spécialité Fansidar\* présenté sous deux formes galéniques:

- En comprimé dosé à 500 mg de sulfadoxine et 25 mg de pyriméthamine;
- En soluté injectable dans les ampoules de 2 ml sous forme huileux dosé à 200 mg de sulfadoxine et 10 mg de pyriméthamine.

Cette association est d'action prolongée (15 jours) administrée en prise unique. Son action antimalarique porte sur deux niveaux différents de la chaîne de synthèse des acides nucléiques du parasite. Comme pour tous les sulfamides, les risques d'apparition des lésions dermatologiques existent.

**2-2-2-2- L'amodiaquine.**

L'amodiaquine est de la famille chimique des Amino 4 quinoleines.

Elle est actuellement déconseillée en traitement prophylactique en raison des réactions indésirables qu'elle cause. Ces réactions indésirables sont dues à sa toxicité hématologique et hépatique parfois mortelle. Cette toxicité le proscrit également comme médicament de première intention dans le traitement curatif du paludisme. Dans le commerce, on le trouve sous deux noms de spécialité:

- Flavoquine\* présentée sous la forme comprimé dosé à 150 mg de base et sous forme de poudre aromatisée dosée à 50 mg/5 ml (usage pédiatrique);

- Camoquin\* présenté sous la forme de comprimé dosé à 200 mg de base et sous forme de suspension buvable dosée à 50 mg pour 5 ml.

L'amodiaquine est de bonne absorption, complètement métabolisée dans le foie sous sa forme active (monodesethyl amodiaquine). Elle est éliminée par le rein et la bile.

#### 2-2-2-3- Le qinghaosu.

Sa structure chimique est différente des molécules précédentes; c'est un produit d'origine chinoise efficace sur les formes graves du paludisme à P.falciparum où suivant la nature de son sel, il peut être administrée par voie:

- orale pour l'artemisinine;
- intramusculaire pour l'arthemether;
- intraveineuse pour l'arthesunate.

Ce produit est aussi utilisé dans d'autres pays outre que la Chine.



2-3- L'Espoir vaccinal(Gentilini,1990 /Valero et coll,1993).

Des recherches en cours ces dernières années ont permis d'aboutir à des candidats vaccins dont le plus récent est celui de la Colombie en Amérique du sud dénommé SPF 66. C'est un vaccin antimérozoïte qui est même déjà utilisé expérimentalement chez l'homme. Elle est actuellement à sa 3 ème phase d'étude.

La complexité de cette parasitose, notamment de son cycle évolutif explique les difficultés actuelles dans l'élaboration de ce vaccin antimalarique. Ces dernières conduisent les chercheurs à l'idée de la mise au point d'un vaccin multivalent associant les épitopes de différents stades. Pour cette nouvelle approche, il fallait d'abord définir au préalable les cibles potentielles de ce vaccin aux différents stades du cycle évolutif. Ainsi, il a été retenu 4 stades choisis pour le fait qu'ils présentaient des formes libres du parasite que celles-ci étaient immunogènes. Ces stades ou cibles sont:

- les sporozoïtes;
- les mérozoïtes;
- les gamètes et les gamétocytes;
- le corps bleu intrahépatique./.

**CHAPITRE III: LA RESISTANCE.**

### **3-1- Définition.**

La chimiorésistance des Plasmodium falciparum aux antimalariques se définit comme "l'aptitude d'une souche de parasite du paludisme à survivre ou à se reproduire, malgré l'administration et l'absorption d'un médicament employé à des doses égales ou supérieures aux doses ordinairement recommandées mais comprises dans les limites de la tolérance du sujet" (OMS 1965).

Il convient d'indiquer qu'entre la résistance complète au sens de la définition OMS et la sensibilité totale à un antipaludéen, il existe tout un spectre de réponses pour lesquelles l'OMS a établi une classification basée sur l'évolution de la parasitémie dans les tests in vivo (Desfontaine, 1990; confère 3-4).

### **3-2- Historique de la chimiorésistance.**

#### **3-2-1- Constat des premiers cas de chimiorésistance aux antimalariques(OMS,1984/ OMS,1990/ Peters,1987).**

Pendant plusieurs siècles, de nombreux remèdes furent proposés pour traiter la fièvre de marais. Ces remèdes furent malheureusement souvent sans succès. Il fallut attendre l'an 1630 pour que fût découvert au Pérou, le médicament capable de guérir cette fièvre. Il s'agissait du quinquina administré sous forme d'infusion obtenue des écorces de plusieurs espèces d'arbres. Du quinquina, il fut en 1820 extrait et identifié chimiquement pour la première fois la quinine par deux pharmaciens, Pelletier et Caventou(Gentilini et Nozais,1991). Plus tard, il fut élaboré à partir de cette quinine, les premières spécialités pharmaceutiques utilisées dans le traitement du paludisme. Le traitement par la

quinine a donné les résultats escomptés jusqu'en 1910 lorsqu'il fut constaté pour la première fois au Brésil le phénomène de résistance de Plasmodium falciparum à ce produit. Pour pallier cette résistance, il fut préconisé l'utilisation du bleu de méthylène comme traitement antimalarique. Progressivement vers les années 30, la quinine fut substituée par la Mépaquine\* plus particulièrement dans le traitement prophylactique. Jusqu'à l'avènement des autres antimalariques de synthèse, à savoir les amino-4-quinoléines (chloroquine en 1945 et amodiaquine en 1947) et les inhibiteurs de la deshydrofolate reductase (proguanil en 1948 et pyriméthamine en 1951), il n'avait plus été signalé un cas de résistance de P.falciparum aux antimalariques dans le monde. Ce n'est qu'après l'utilisation de masse à des fins prophylactiques de ces antimalariques de synthèse qu'apparurent en 1949 en République Unie de Tanzanie et en 1952 en République de Gambie, les premiers cas de résistance respectivement au proguanil et à la pyriméthamine. Cette résistance des P.falciparum aux inhibiteurs de la deshydrofolate reductase ne fut malheureusement pas pris en considération du fait que les amino-4-quinoléines conservaient encore, à cette époque, leur efficacité tant dans leur utilisation prophylactique que curative. Ce n'est qu'avec l'apparition presque simultanée en Asie méridionale (frontières Thaïlande et Cambodge en 1957) et en Amérique du Sud (Venezuela et Colombie en 1960), des premiers cas de chloroquino-résistance d'une part et au Brésil en 1961 des premiers cas d'amodiaquino-résistance d'autre part que la situation a paru préoccupante.

Dans la crainte de voir s'évanouir les possibilités de guérison offertes par le petit arsenal des produits existants, il a été entrepris des recherches sur des médicaments de deuxième intention efficaces sur les souches de Plasmodium falciparum résistantes (Bruce-Chwatt, 1984). Ces recherches étaient orientées sur deux axes, à savoir:

- La recherche d'association entre les molécules antimalariques déjà existantes. La première association qui date de 1964 est celle de sulfadoxine/pyriméthamine surtout utilisée dans le cas de résistance de Plasmodium falciparum à la chloroquine. Mais on a observé dans le sud-est asiatique (Cambodge 1968), des souches de Plasmodium falciparum résistant à cette association. Cet échec a entraîné un regain d'intérêt pour la quinine utilisée en association avec les tetracyclines (traitement de troisième intention);

- La recherche sur l'élaboration de nouvelles molécules antimalariques comme la méfloquine en 1972, la benflumetol en 1987, l'halofantrine en 1988 et l'hydroxypiperaquine actuellement au stade expérimental.

De tous ces produits, la méfloquine et l'halofantrine connaissent déjà le phénomène de résistance.

**3-2-2- Extension de la chimiorésistance de Plasmodium falciparum en Afrique (DeeFontaine, 1990/ Le Bras et Basco, 1991/ Le Bras et Ringwald, 1990).**

L'Afrique comme les autres parties du monde touchées par le paludisme a vu apparaître la résistance des Plasmodium falciparum aux antimalariques. Des études ont été surtout effectuées sur la chimiorésistance à la chloroquine.

Les observations faites sur le terrain indiquaient déjà une éventuelle existence de souches de P.falciparum résistantes à la chloroquine à Madagascar et au Mozambique en 1975. Ce n'est qu'en 1978 par des tests in vitro qu'a été confirmé au Kenya et en Tanzanie cette résistance à la chloroquine. Du point de vue de son évolution, cette chimiorésistance serait pénétrée en Afrique par sa partie Est en provenance de l'Asie du sud-ouest ou de l'Inde. C'est à partir du Kenya et de la Tanzanie, premiers foyers présumés que les souches de P.falciparum chloroquinorésistantes se sont disseminées dans toute la région Est de l'Afrique et les îles voisines par une évolution de proche en proche entre 1978 et 1983.

L'Afrique centrale et l'Afrique de l'Ouest épargnées jusque là connurent une extension notable de cette chloroquino-résistance. Elle s'est propagée à travers l'Afrique centrale par le Zaïre, Ruanda, Angola et Zambie en 1984 pour aboutir à l'Afrique de l'Ouest par le Bénin en 1986. Les pays composant la sous région sanitaire de l'OCEAC ont connu leurs premiers cas de résistance en 1984 au Gabon (Burchard et coll, 1984) et en RCA (Christian, 1984), en 1985 au Cameroun (Sansonezzi et coll, 1985) et au Congo (Le Bras et coll, 1985) et en Guinée Equatoriale en 1986 (Le Bras et Simon, 1987).

### 3-3- Mécanisme de la chimiorésistance de Plasmodium falciparum.

Les mécanismes qui engendrent la chimiorésistance des Plasmodium falciparum aux antimalariques et leur transmission génétique ne sont pas encore bien élucidés; cependant, leur compréhension peut être un apport important pour la conception des antimalariques dans le futur.

Des études menées sur des singes sensibles infectés et sur des cultures de Plasmodium falciparum in vitro ont apporté des progrès dans la compréhension de cette pharmacorésistance au stade endoérythrocytaire. Plus récemment, la découverte des techniques de culture des Plasmodium murins permet d'élargir cette compréhension au stade exoérythrocytaire.

Avant d'aborder l'étude du mécanisme de la chimiorésistance et de sa génétique, il est nécessaire d'entreprendre au préalable, celle de mécanisme normal par lequel les antimalariques agissent sur le Plasmodium.

#### **3-3-1- Mécanisme d'action normal des antimalariques.**

Le mécanisme normal varie suivant que l'antimalarique est un schizontocide sélectif ou qu'il est un antimétabolite.

##### 3-3-1-1- Les schizontocides sélectifs.

Ils ont pour particularité de se concentrer fortement dans les hématies parasitées. L'affinité des plasmodies pour ces schizontocides sanguins contribue à leur action lytique (Charmot et Rodhain, 1982). Cette affinité s'exprimerait suivant deux types de mécanisme qui pourraient s'effectuer simultanément ou séparément. Ce sont:

- La fixation du schizontocide à un récepteur;
- La migration du schizontocide suivant un gradient du pH.

A- Fixation sur un récepteur: ces récepteurs seraient situés au niveau du parasite; ce sont:

- l'ADN du parasite;
- la ferroprotoporphyrine membranaire (FP);
- les phospholipides membranaires.

a)- Fixation sur l'ADN: c'est la plus ancienne des hypothèses.

Elle préconiserait l'intercalation de ces schizontocides, exceptée la méfloquine entre les deux brins complémentaires de l'ADN parasitaire, bloquant ainsi la réplication de cette ADN(Charmot et Rodhain,1982 /Moreau,1989). Bien que théoriquement réalisables, les études effectuées avec la chloroquine ont cependant révélé deux handicaps qui ont motivé le rejet de cette hypothèse. Ces handicaps sont:

- l'existence d'une faible constance d'affinité à des concentrations susceptibles d'inhiber la croissance du parasite lors de l'interaction ADN-CQ;
- la lenteur sur la biosynthèse des protéines(Moreau,1989 /Ward,1988).

b)- Fixation sur la FP(Chou et coll,1980 /Fitch et coll,1982 /Le Bras et Basco,1991 /Moreau,1989).

Ce récepteur mis en évidence par Chou et Fitch est un produit éphémère obtenu lors de la digestion de l'hémoglobine par le parasite. Cette digestion se déroule au niveau du vacuole du parasite. La FP posséderait des propriétés lytiques à l'égard de la



membrane du parasite et de l'hématie hôte. Cette action de lyse serait freinée par une protéine synthétisée par le parasite appelé "Protéine liant l'hème". En effet, il se formera une liaison entre la FP et la protéine liant l'hème donnant ainsi naissance à un pigment malarique inoffensif appelé l'Hématozoïne. L'hématozoïne perd sa stabilité en présence des amino-aryl-alcools et des amino-4-quinoléines. Il se produit un remplacement de la protéine liant l'hème par ces derniers pour former un complexe plus stable. Ce complexe est un pigment malarique toxique avec une toxicité supérieure à celle de l'hématozoïne non combinée. Cette toxicité se matérialise par des anomalies de perméabilités membranaires et un départ incontrôlé du potassium du parasite et de l'hématie hôte occasionnant ainsi une destruction membranaire, par conséquent la mort du parasite. Il convient de signaler qu'il a été démontré que la chloroquine s'intercale entre les dimères d'hématine.

Le mécanisme énoncé ci-dessus est observé in vitro, son aspect moléculaire est encore mal connu, expliquant ainsi de nombreuses controverses à ce sujet.

c)- Fixation sur les phospholipides membranaires (Chevli et Fitsh, 1982).

Une éventualité de liaison des amino-4-quinoléines et des amino-aryl-alcools au niveau des phospholipides membranaires a été préconisée du fait de l'effet stabilisant des amino aryl alcools et des amino-4-quinoléines sur cette dernière. Les études à ce sujet ont surtout été effectuées avec la chloroquine et la méfloquine. Il a été constaté que la méfloquine présente une forte affinité vis à

vis des phospholipides de la membrane comparativement à la Chloroquine.

B- La migration suivant le gradient du pH (Ginsburg et Geary, 1987 /Krogstad, 1985; 1987b /Le Bras et Basco, 1991 /Moreau, 1989 /Warhurst, 1986 /Yayon dans Le Bras et Basco, 1991).

Les hématies parasitées possèdent 3 compartiments séparés par des membranes dont les propriétés hydrophobes les rendent perméables aux formes neutres des molécules et imperméables aux formes chargées. Dans le cas des dibases, la membrane est perméable aux formes monoprotonnées. Ces compartiments possèdent des pH estimés à 7, 0-7, 2 au niveau du cytoplasme du globule rouge parasité, 6,8 à 7,0 au niveau du cytoplasme du parasite et 4,8 - 5,2 au niveau de la vacuole.

D'une part, la présence du gradient de pH et d'autre part, la nature hydrophobe des membranes expliqueraient le passage des formes neutres (et monoprotonnées pour les dibases) de ces molécules à travers les différents compartiments de l'hématie parasitée par simple diffusion pour se retrouver dans la vacuole du parasite dont le pH acide est maintenu par une pompe ATP dépendant. A l'intérieur de la vacuole digestive, les formes neutres des amino aryl alcools et des amino 4 quinoléines connaîtront une protonation au niveau de leurs atomes d'azote basiques pour donner les formes chargées diprotonnées non diffusibles à travers la membrane occasionnant par là leur accumulation avec pour conséquence l'augmentation de la concentration, le dépassement de la pompe ATP dépendant et du pouvoir de tamponnement. Toutes les modifications enregistrées au

niveau de la vacuole du parasite vont entraîner l'arrêt de ces activités dont la digestion de l'hémoglobine. Cette propriété de base faible ne permet pas toutefois à elle seule d'expliquer l'augmentation importante du pH due à une importante accumulation des schizontocides au niveau de la vacuole digestive, contrairement aux prévisions faites sur la base du  $pK_a(S)$  (dans le cas de la chloroquine) et des différences de pH entre les compartiments de l'hématie parasitée. C'est ainsi qu'il a été suggéré par plusieurs auteurs des mécanismes additionnels faisant intervenir des propriétés dites "non base faible" complémentaires à celles de base faible.

Warhurst évoque l'hypothèse d'un transport actif de la chloroquine (sous forme diprotonée) par le parasite. Ce transport serait assuré par une perméase située sur la surface de la membrane du parasite et placé sous l'influence d'un gradient de proton maintenu par une pompe ATP indépendant. La réalisation de ce mécanisme nécessite que le pH du cytoplasme érythrocytique soit en dessous de celui du cytoplasme parasitaire, ce qui fut déjà prouvé expérimentalement (figure 5). La confirmation de cette hypothèse nécessite la mise en évidence du transporteur qui n'est pas encore fait.

Krogstad préconise l'intervention, soit d'un transporteur membranaire situé sur la membrane érythrocytaire, soit d'un récepteur qui pourrait être la FP pour compléter l'action de base faible.

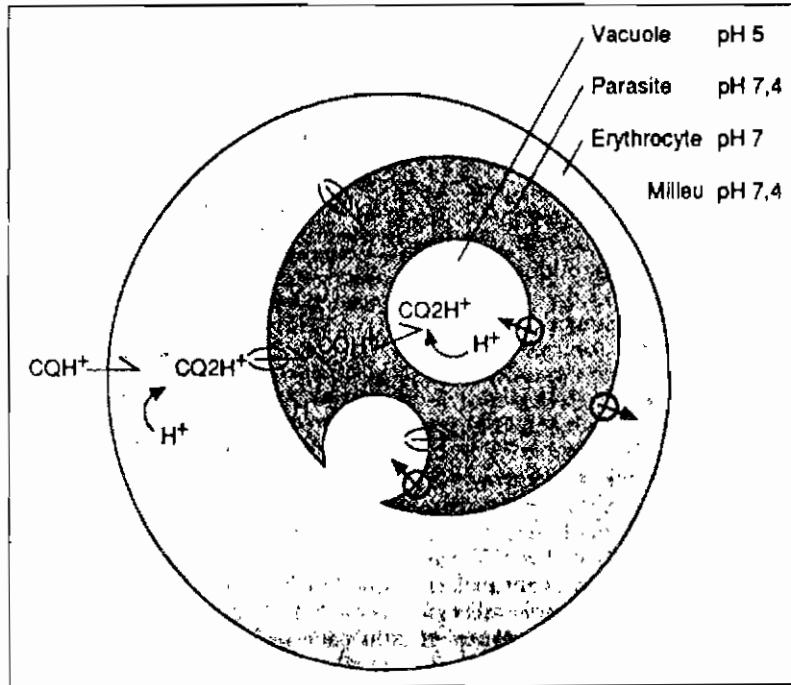


Figure 5: Profil de pH des compartiments d'une hématie parasitée (Moreau, 1987).

Yayon, contrairement aux autres auteurs, évoque une hypothèse dont le phénomène clé n'est pas l'augmentation du pH. Son hypothèse se base sur les études ultra structurales de la digestion chez *P.falciparum*; d'après ces observations, la chloroquine inhiberait directement les peptidases et les phospholipases sans toutefois occasionner une élévation de pH, ce qui justifierait l'accumulation de vésicules d'endocytoses dans la vacuole du parasite.

### 3-3-1-2- Les antimétabolites.

Le Plasmodium a besoin pour sa croissance de pABA (Acide-para amino-benzoïque) dont la transformation par une série de réaction (figure 6) lui permet d'élaborer ses propres pyrimidines de novo puisqu'il ne peut pas utiliser l'acide folique de l'hôte (Le Bras et col, 1993).

L'action schizontocide des antimétabolites consiste à bloquer cette biosynthèse par inhibition de l'activité enzymatique d'une part, de la synthétase de l'acide dihydrofolique (enzyme impliqué dans la première étape de cette synthèse) par les antifoliques (sulfone + sulfamide) qui sont les analogues de structures du pABA avec lequel il rentre en compétition dans la synthèse de l'acide folique et d'autre part, de la dihydrofolate réductase (enzyme impliqué dans la deuxième étape de cette biosynthèse) par les antifoliniques (pyréthrine et guanine) [Charmot et Rodhain, 1982 / Le Bras et Basco, 1991).

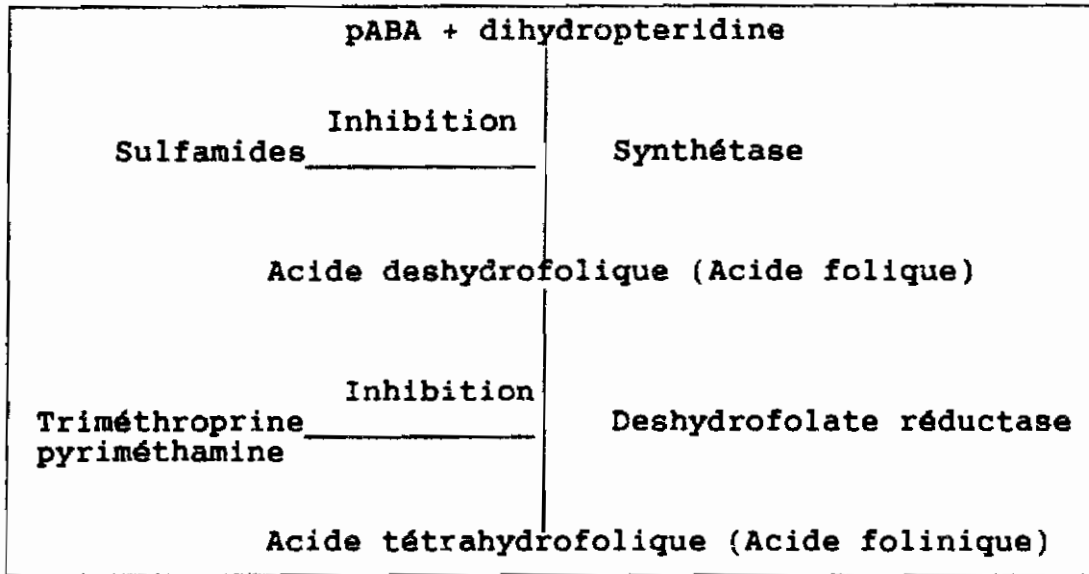


Figure 6: Mode d'action des schizontocides antifoliques et antifoliniques.

### 3-3-2- Mécanisme d'action mis en évidence dans la

chimiorésistance (Fitch, 1984/Krogstad, 1987a/Warhurst, 1986).

Les travaux sur la résistance antimalarique ont dès le départ consisté en une étude comparative sur le mécanisme d'action des souches sensibles. Si le phénomène clé observé chez les souches sensibles est la forte accumulation des molécules antimalariques, précisément des schizontocides sélectifs, dans les hématies parasitées comparativement aux hématies non parasitées, ces études ont permis de montrer que chez les souches résistantes, leur accumulation dans les hématies parasitées est moindre. Cette moindre accumulation est imputée aux modifications d'origines diverses survenant sur au moins un des mécanismes d'action des molécules antimalariques.

- La ferroprotoporphyrine (FP).

Le phénomène de résistance serait attribué à une sequestration importante de celle-ci qui aurait pour conséquence la baisse de la formation du complexe FP-CQ. Sans toutefois avoir apporté des preuves expérimentales, Fitch justifie cette hypothèse en proposant différents mécanismes possibles tel que l'augmentation de la quantité ou de l'affinité de la protéine liant l'hème ainsi que la rapidité de la séquestration de la FP.

- Le gradient de pH évoqué par Wharhurst.

Le développement de la résistance nécessiterait une modification soit:

\* du gradient de pH qui serait occasionné par l'arrêt de la pompe à proton ou par un changement de la perméabilité des membranes;

\* de la quantité et la qualité des perméases localisées dans la membrane plasmique et la vacuole du parasite.

- L'efflux des amino-4-quinoléines et des amino-aryl-alcools.

C'est sur le mouvement dans les deux sens influx et reflux de la chloroquine marquée à travers la membrane des souches sensibles et résistantes de P.falciparum que se base l'explication de la résistance.

En effet, après l'influx de la chloroquine marquée (dominée) dans les quatre premières minutes par une vitesse initiale d'accumulation sensiblement identique de la chloroquine pour les deux souches, les minutes qui suivent sont marquées par un état d'équilibre de l'accumulation qui est plus significatif chez les souches sensibles. Ensuite se déroule un éfflux avec une sortie plus rapide de la chloroquine marquée chez les souches de

P.falciparum résistantes ( $t^{1/2} = 2,2$  mn) que chez les souches de P.falciparum sensibles ( $t^{1/2} = 85$  mn), ce qui permet d'expliquer la différence de taux de la chloroquine à l'équilibre dans les deux souches ( $t_{1/2} =$  temps de sortie de la moitié de la dose initiale).

- La modification des phospholipides membranaires et de la fuite des protons.

En effet, une modification des phospholipides impliqués dans la perméabilité membranaire aux bases protonées pourrait faciliter la fuite des schizontocides.

- La reversion de la résistance (Bitonti et coll, 1986/ Thomas et coll, 1990).

La similarité frappante entre les mécanismes de la chloroquino résistance et celui de la résistance aux molécules anticancéreuses (Verapamil\*) présentée par certaines cellules cancéreuses des mammifères in vitro permet de croire que grâce à une pompe à proton ATP dépendant formée de glycoprotéines (similaire à celle observée chez les lignées de cellules cancéreuses) que les souches de P.falciparum résistantes puissent développer un efflux de la chloroquine.

Pour étayer cette dernière synthèse, il convient de signaler que la Verapamil\* s'est avérée capable de restituer la sensibilité à la chloroquine des souches chloroquino résistantes, par contre, dans les cas des souches chloroquinosensibles, la synergie Verapamil\* n'est pas observée.



### 3-3-3- Génétique de la résistance.

Il semble que la résistance aux antimalariques soit génétiquement codée bien que son gène n'ait pas encore été isolé de façon précise chez P.falciparum. Il ressort des travaux effectués sur des plasmodium de rongeurs résistants aux sulfamides, à la pyriméthamine et à la chloroquine que la résistance se transmet selon le mode mendelien. Ce phénomène semble stable car les études faites sur un Plasmodium résistant de rongeurs ont confirmé sa stabilité après passage chez les moustiques vecteurs (Beale, 1980/OMS, 1984). Toutefois, on connaît peu de choses sur l'influence des différents hôtes sur l'expression des sens impliqués dans la résistance.

#### 3-3-3-1- Génétique de la résistance aux antifolates.

Le caractère sensibilité du parasite aux antifolates est gouverné par le gène dihydrofolate réductase-thymidilate synthétase (DHFR-TS) [Zolig et coll, 1989]. Des analyses comparatives effectuées sur la DHFR des parasites résistants aux antifolates et ceux sensibles ont fait apparaître des variations de structure qui portent sur le remplacement de:

- l'Ala 16 et la Ser 108 respectivement par la Val 16 et la Thr 108 dans les cas des souches résistances uniquement à la cycloguanil (métabolite actif du proguanil);

- La Ser 108, l'Asn 51 et la Cys 59 respectivement par l'Asn 108, l'Ile 51 et l'Arg 59 dans le cas des souches résistances à la pyriméthamine avec une légère baisse de sensibilité pour la proguanil;

- La Ser 108, l'Ile 164 et la Cys 59 respectivement par l'Asn 108, la Leu 164 et l'Arg 59 dans le cas de résistance croisée significative aux antifolates (Peterson et coll, 1990; 1991).

N.B.: ALA = alanine; SER = sérine; VAL = valine; THR = threonine; Asn = asparagine; Ile = Isoleucine; Cys = cysteine; Arg = argénine; Leu = leucine.

### 3-3-3-2- Génétique de la chloroquinorésistance.

La résistance à la chloroquine présente 3 phénotypes qui sont le phénotype chloroquinorésistant, l'efflux rapide et MDR-like (multidrug resistance-like) [Wellems et coll, 1990].

L'analyse comparative des chromosomes des souches résistantes et des souches sensibles de P.falciparum a permis d'identifier les locus des gènes gouvernant les phénotypes précités. C'est ainsi qu'il a été trouvé que:

- Le gène de l'efflux rapide et du phénotype de chloroquinorésistance se trouve dans un même locus du chromosome 7 (Wellems et coll, 1991);

- Le phénotype MDR possède deux gènes homologues chez P.falciparum qui sont le Pfmdr1 et le Pfmdr2 (Cowman et Karcz, 1991). Le Pfmdr1 peut être l'objet d'une amplification génique non liée à la résistance, car cette amplification génique peut aussi s'observer chez certaines clones sensibles. Il est localisé sur le chromosome 5 qui est fortement agrandi dans la résistance (Foote et coll, 1989). Le Pfmdr2 qui ne connaît pas d'amplification lors de la résistance, donc pas impliqué dans la résistance. IL se trouve localisé sur le chromosome 14 (Cowman et Karcz, 1991).

Les bases moléculaires de cette résistance restent encore mal connues.

### 3-4- Techniques d'étude.

#### **3-4-1- Les tests in vivo.**

La technique in vivo permet d'évaluer la réponse du P.falciparum aux antimalariques chez l'homme.

##### 3-4-1-1- Principes.

L'antimalarique à tester est administré per os chez des sujets porteurs des formes asexuées endoérythrocytaires de P.falciparum suivant un protocole thérapeutique choisi. Pour des raisons d'éthique, les sujets doivent être asymptomatiques (Carne et coll, 1991). On suit par la suite l'évolution de la parasitémie dans le temps.

##### 3-4-1-2- Méthodes (Le Bras et Basco, 1991).

###### **A- Cas de la Chloroquine.**

La commission technique de l'OMS a défini des protocoles standardisés qui sont:

a)- Epreuve prolongée de 28 jours: il faut d'abord s'assurer que les sujets à traiter n'ont pas pris des antimalariques dans les jours précédant le test. On administre ensuite aux sujets porteurs asymptomatiques 25 mg/kg de chloroquine base réparti en trois jours à raison de 10 mg/kg à J0 et J1, puis 5 mg/kg à J2. On procède toutes les 24 heures de J1 à J7 à une évaluation de la parasitémie. Durant le restant des jours, le protocole consiste à l'évaluation de la parasitémie par intervalle de 7 jours, donc à J14, J21 et J28.

L'impossibilité de savoir, en zone de forte transmission, si la réapparition de la parasitémie après J7 était due à une résistance ou à une réinfestation a conduit à mettre en place le test simplifié sur 7 jours.

b)- Epreuve pratique simplifiée OMS ou épreuve de 7 jours: Le protocole est identique à celui de 7 premiers jours de l'épreuve précédente. L'aspect contraignant de cette évaluation de la parasitémie de J1 à J7 a amené à la simplifier; d'où dans la pratique on assiste plus souvent à l'évaluation de la parasitémie à J3 et J7 (test simplifié).

c)- Epreuve OMS par une dose unique de 5 mg/kg et 10 mg/kg: cette épreuve n'est pas de pratique courante. Elle trouve sa nécessité dans l'un des cas suivants:

- Dans le cas où l'enquête se déroule dans une zone de population à degré d'immunité très élevé et où une dose unique de 5 ou 10 mg/kg de chloroquine peut entraîner une guérison;

- Dans le cas où l'enquête effectuée sert de préliminaire à une future enquête utilisant le traitement de trois jours;

- Dans le cas où il est impossible d'effectuer le traitement de trois jours.

d)- L'épreuve OMS utilisant 35 mg/kg: cette épreuve est pratiquée dans les zones de forte résistance. Le traitement nécessite une prise de 35 mg/kg de chloroquine répartie: soit en 4 jours à raison de 10 mg/kg/jour en une seule prise à J0, J1, J2 et 5 mg/kg/jour en une seule prise J3. Soit en 5 jours à raison de 10 mg/kg/jour en une seule prise à J0, J1 et 5 mg/kg/jour en une seule prise à J2,

J3, J4.

Dans les deux éventualités, une évaluation de la parasitémie est faite à J7.

B- Cas des autres antimalariques.

Pour des raisons d'ordre pratique, il n'existe pas de schémas standard universellement adoptés pour l'évaluation in vivo des autres antimalariques. En effet, il se pose des difficultés:

- Dans la détermination d'une dose thérapeutique fixe. C'est le cas de la méfloquine et de l'amodiaquine;

- Dans la détermination d'une durée de traitement.

Le problème se pose par exemple pour l'amodiaquine où le traitement dure 2 à 3 jours chez des sujets non immunisés de quelques zones d'Afrique sahélienne, tandis qu'il dure 7 jours dans la zone forestière en Amérique Latine avec une rare chance d'observer une résistance de type R1 précoce.

- Dans la détermination de la période d'évaluation de la pararitémie.

Le problème se pose surtout pour la méfloquine dont les rechutes tardives peuvent être observées après le 28<sup>ème</sup> jour qui suit le début du traitement.

Ce phénomène s'explique par la très lente élimination de la méfloquine. Néanmoins, des schémas de protocole approuvés par des groupes d'experts sont actuellement utilisés dans les enquêtes in vivo. Ce sont pour:

a- amodiaquine:

25 mg/kg répartis en trois jours à raison de 10 mg/kg/jour en une prise les 2 premiers jours et 5 mg/kg/jour en une seule prise le 3<sup>ème</sup> jour ou 35 mg/kg répartis en 5 jours à raison de 10 mg/kg/jour en une seule prise les 2 premiers jours et 5 mg/kg/jour les 3 derniers jours du traitement.

Le contrôle de la parasitémie sera fait à J7 par la technique de la goutte épaisse.

b- quinine (présentée sous forme de Quinine-Résorcine-bichlorique = Quinimax \*) [Jambou et coll, 1990].

L'administration se fait toutes les 8 heures à la dose de 8 mg/kg pendant 7 jours (3 jours pour le traitement court).

L'évaluation de la parasitémie est faite tous les jours, du début du traitement au 7<sup>ème</sup> jour et la dernière au 14<sup>ème</sup> jour.

c- Le Fansidar\*(association sulfadoxine-pyriméthamine) [Hengy et coll, 1990].

Le traitement se fait en prise unique à J0 à raison d'un comprimé par 20 kg de poids corporel sans toutefois dépasser 3 comprimés. Le contrôle de la parasitémie sera faite à J7. Ce protocole est également applicable pour le Fansimef\*.

#### 3-4-1-3- Interprétation (Figure 7).

L'interprétation des résultats des tests in vivo permet de déterminer le type de réponse que présente les sujets à l'épreuve de sensibilité. Un classement de reponse en 4 types a été défini en 1973 par l'OMS. Ils sont symbolisés par S (sensible) et R (résistant) dont R1, R2 et R3.

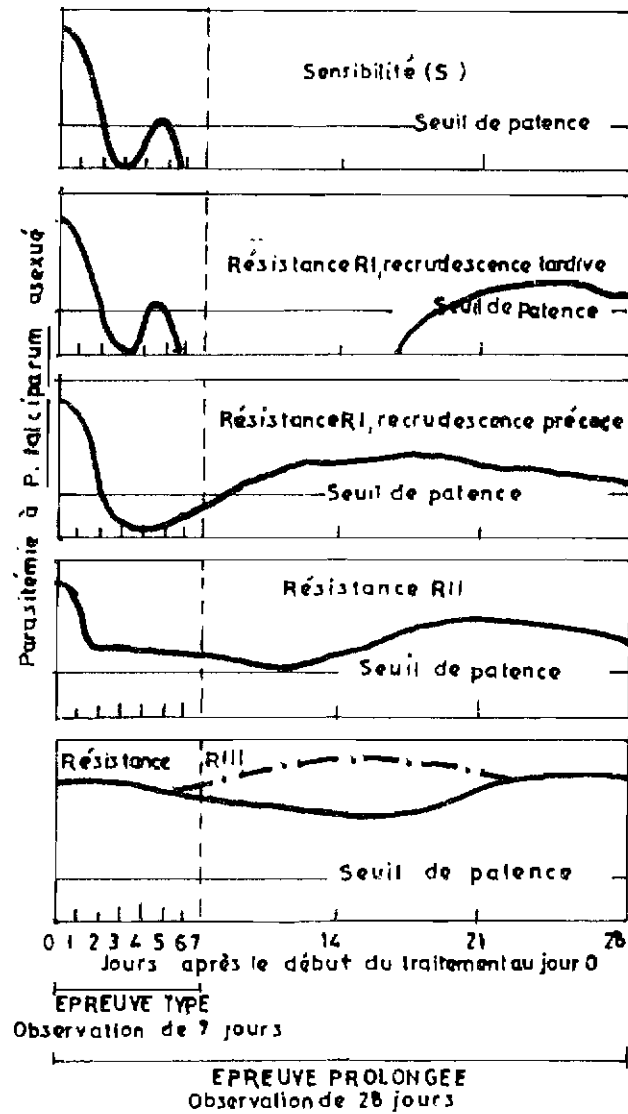


Figure 7: Types de réponses à l'épreuve pratique de sensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine ( O M S 1 9 7 3 )

Réponse de type S: elle est marquée par la disparition de la parasitémie avant J7 sans recrudescence ultérieure.

Reponse de type R1: elle est marquée par la disparition de la parasitémie avant J7, avec une recrudescence pouvant apparaitre soit:

- de J7 à J15 dans le cas d'une reponse de type R1 précoce;
- de J16 à J28 dans le cas d'une reponse de type R1 tardive.

Réponse de type R2: il n'y a pas de disparition complète de la parasitémie. Toutefois, une diminution de la densité parasitaire d'au moins un quart à celle de J0 est observée entre J0 et J7.

Réponse de type R3: la parasitémie persiste à J7 avec une densité parasitaire qui ne descend pas de plus de un quart par rapport à la valeur de J0.

Remarques: l'interprétation en terme de S, R1, R2 et R3 a été développée pour P.falciparum et les amino 4 quinoleines à la dose de 25 mg/kg répartie sur 3 jours.

L'interprétation des résultats du test in vivo à l'échelle individuelle peut être fausse car il n'existe toujours pas de corrélations entre la persistance de la parasitémie et le phénomène de résistance ou l'échec thérapeutique. En effet, des facteurs tels:

- le défaut d'absorption ou d'ingestion;
- la prémunition du sujet;
- la réinfection du sujet dans le délai de l'épreuve comme nous l'avons déjà signalé plus haut pouvant survenir dans les épreuves prolongées, sont souvent des sources d'erreur pouvant faire croire



à un cas de résistance, d'où la nécessité d'exprimer des réserves dans l'interprétation des résultats à l'épreuve in vivo à l'échelle de l'individu. Par contre, à l'échelle d'une population bien que les possibilités d'erreur soient toujours présentes, elles sont faibles avec des taux inférieurs à 5 %.

Si les possibilités les permettent, il est souhaitable de coupler les techniques in vivo et in vitro.

### **3-4-2- Technique in vitro.**

L'épreuve in vitro permet de quantifier au laboratoire, la baisse de sensibilité ou la résistance de P.falciparum aux antimalariques. Outre cette utilisation (antipaludogramme), le test in vitro peut être également utilisé dans l'étude de l'activité des nouveaux antimalariques.

#### **3-4-2-1- Principe.**

Il repose sur l'association de deux faits, à savoir:

1)- La capacité des schizontocides à inhiber la maturation des jeunes parasites intraérythrocytaires (trophozoites) en formes adultes du parasite (schizontes) par le blocage de la division nucléaire;

2)- La capacité de formation spontanée des schizontes hors de l'organisme à partir des trophozoites après une période d'incubation sous des conditions environnementales bien précises. Cette observation fut faite pour la première fois par Bass (1912 dont Trager et Jensen, 1976); cette association a conduit à la mise au point du test in vitro dont le principe consiste à effectuer des cultures de trophozoites en présence d'une ou de séries de

concentrations croissantes des produits (drogues) à tester, puis à procéder, après une période d'incubation, à une appréciation de l'inhibition de la maturation. Celle-ci peut être faite soit par numération différentielle des trophozoites et des schizontes, soit par mesure de l'incorporation d'un précurseur des acides nucléiques du parasite qui est l'Hypoxanthine tritiée.

Les résultats sont exprimés en Ci 50 et en Ci 90, c'est à dire en concentration inhibant 50% et 90 % de la maturation du parasite par rapport aux cultures témoins exprimées en nanomoles (nm).

#### 3-4-2-2- Méthodes.

Quatre méthodes sont actuellement disponibles pour réaliser une épreuve in vitro, à savoir:

- le macrotest de Rieckmann mis au point en 1968 (OMS,1979);
- le microtest de Rieckmann mis au point en 1978 (Rieckmann et coll,1978);
- le test isotopique Desjardins mis au point 1978 (Desjardins et coll,1979);
- le semi microtest de Le Bras mis au point en 1980 (Le Bras et coll,1984).

Ces méthodes diffèrent les unes des autres par:

- Les volumes des milieux de culture dont les valeurs extrêmes sont 5 ml/cupule, c'est le cas dans le microtest, et 1 ml/cupule, c'est le cas dans le macrotest avec des valeurs intermédiaires de 0,2 ml/cupule pour le test et 0,7 pour le semi test;
- Le type d'interprétation ou lecture: il peut se faire par numération microscopique des schizontes, c'est le cas du macrotest

sur frottis mince (schizonte/100 hématies) et du microtest sur goutte épaisse (schizonte/500 leucocytes). Il peut également se faire par comptage cytométrique automatique grâce à l'incorporation de l'hypoxanthine tritiée applicable pour les semi microtest et test isotopique;

- Le temps et l'atmosphère nécessaires à l'incubation: ils sont respectivement de:

- 24 heures en milieu ambiant pour le macrotest;
- 26 heures dans une jarre à bougie pour le microtest;
- 48 heures dans une jarre à bougie pour le test isotopique ainsi que le semi microtest;

- L'hématocrite de la suspension d'hématie dont les valeurs de 50 % pour le macrotest, 5 % pour le micro test et le test isotopique et enfin de 2,5 % pour le semi microtest;

- Le type de prélèvement veineux ou capillaire;
- Le mode d'expression des résultats qui peut être la CI 50, CI 90 ou la CMI.

3-4-2-3- Limite du test in vitro (Le Bras et Basco, 1991 /Le bras et Ringwald, 1989).

- L'interprétation microscopique des souches mises en culture in vitro est lente et fastidieuse, par contre une interprétation isotopique et standardisée est possible, mais nécessite un matériel coûteux;

- Les difficultés dans l'évaluation de la CMI fait que dans la majorité des cas l'on se contente des valeurs approximatives comme la CI50, CI90 et CI99;

- Une densité parasitaire convenable est nécessaire pour la réalisation du test in vitro, elle doit supérieure à 2000 parasites/ul sans toutefois être excessive;

- La congervation des échantillons se fait à 2 - 8 °C pendant 5-7 jours. Les échantillons conservés à la température ambiante ou dans l'azote liquide à - 196 °C ou encore au delà de 7 jours à 2,2 °C est sujet à une altération partielle au totale des parasites;

- Pour les tests utilisant le sang total, la présence de leucocytes et d'anticorps pose le risque de voir s'ajouter l'effet schizonticide de ceux-ci à celui du médicament étudié in vitro;

- Enfin, le comportement d'une souche de parasite in vitro ne reflète probablement que partiellement son comportement réel dans l'organisme humain.

**CHAPITRE IV: LE PALUDISME AU CONGO**

## 4-1- Le Congo, Géographie et Administration.

### 4-1-1- Aperçu de la géographie du Congo.

Le Congo est situé au coeur de l'Afrique centrale plus exactement dans la partie ouest de l'Afrique équatoriale. Son territoire, à cheval sur les deux hémisphères (figure 8), s'étend de part et d'autre de l'Equateur sur 342.000 km<sup>2</sup>.

Le Congo a pour frontières:

- au Nord, la République du Cameroun et la République Centrafricaine;
- à l'Est, le fleuve Congo et son affluent l'Oubangui le séparant de la République du Zaïre;
- au Sud, la République du Zaïre, la République d'Angola (l'enclave de Cabinda);
- au Sud-ouest, l'Océan Atlantique;
- à l'Ouest, la République Gabonaise.

Les 3/5 de la superficie du Congo sont recouverts par une forêt dense de type équatoriale et presque tout le reste par des formations herbeuses parsemées d'arbustes de la savane.

Situé dans la zone équatoriale, le Congo présente un climat chaud et humide. La température moyenne est de 25 degrés celsius.

On distingue 3 types de climat:

- le climat équatorial dans le Nord du pays (région de la Likouala et de la Sangha);
- le climat tropical humide dans le Sud-ouest du pays (une partie de la région du Pool, la Bouenza, le Niari, la Lekoumou et une partie des Plateaux);

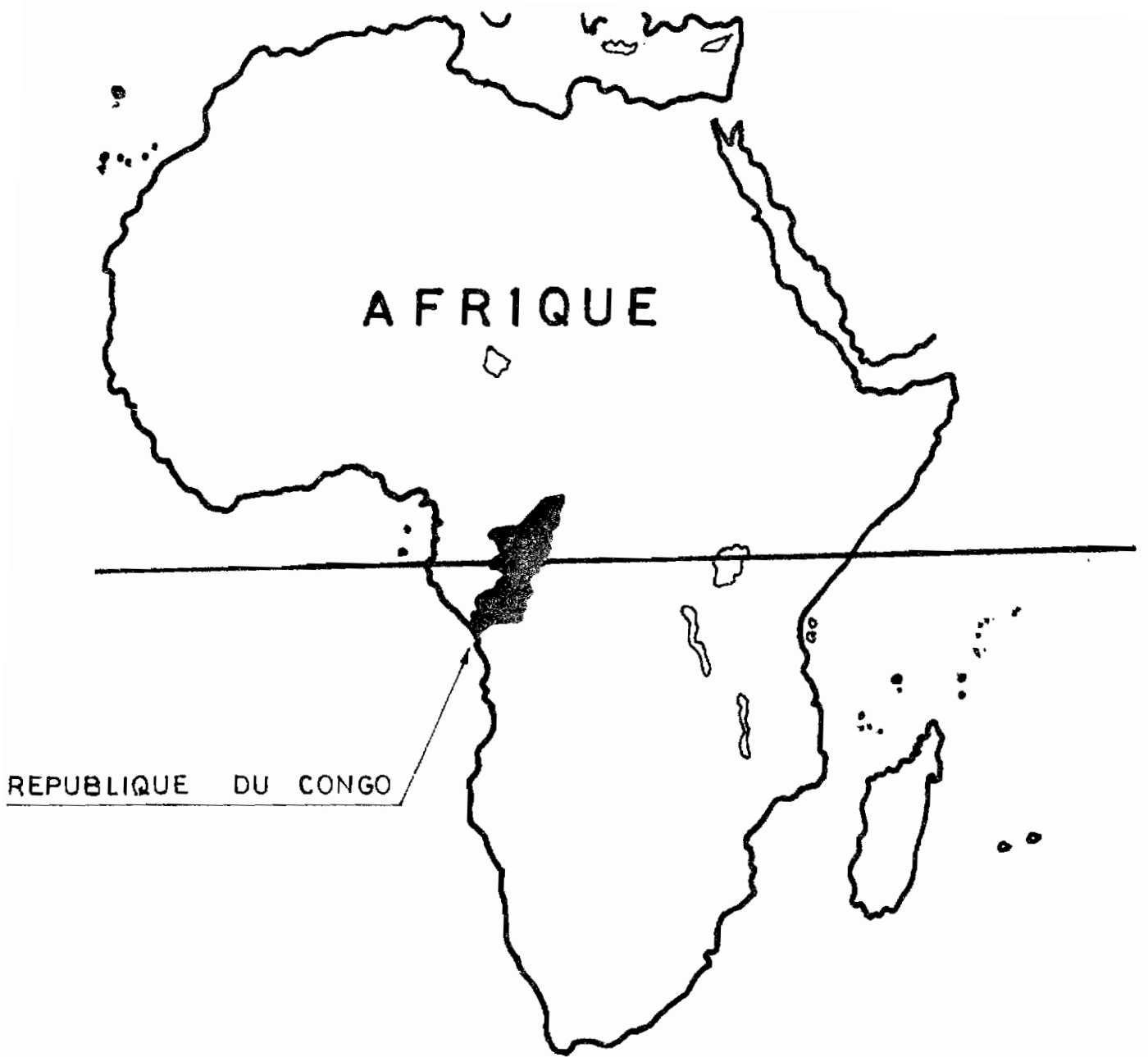


FIGURE 8 : SITUATION DU CONGO EN AFRIQUE

- le climat Sub-équatorial dans le centre du pays (région de la Cuvette, une partie des Plateaux et une partie du Pool).

#### 4-1-2- Administration.

##### **4-1-2-1- Organisation administrative (Figure 9).**

Le Congo comprend 9 régions qui sont subdivisées en 47 districts auxquels sont rattachés 29 postes de contrôle administratifs (P.C.A.). En outre, il y a 4 communes urbaines disposant de l'autonomie administrative. Brazzaville la capitale constitue une région autonome.

##### **4-1-2-2- Organisation sanitaire.**

Elle correspond à l'organisation administrative du pays. On distingue 3 niveaux (selon le Plan National de Développement Sanitaire, P.N.D.S.) à savoir:

- le niveau central constitué par le Département ministériel;
- le niveau régional ou intermédiaire constitué par les Directions régionales de la Santé;
- le niveau périphérique ou local constitué par des circonscriptions socio-sanitaires (C.S.S.).

Le Congo compte au total 10 régions sanitaires dont les activités sont le ressort de chacune de 9 régions administratives du pays et de la commune autonome de Brazzaville.



- ⊗ Commune urbaine
- Chef-lieu de région
- - - Limite d'Etat
- - - Limite de région

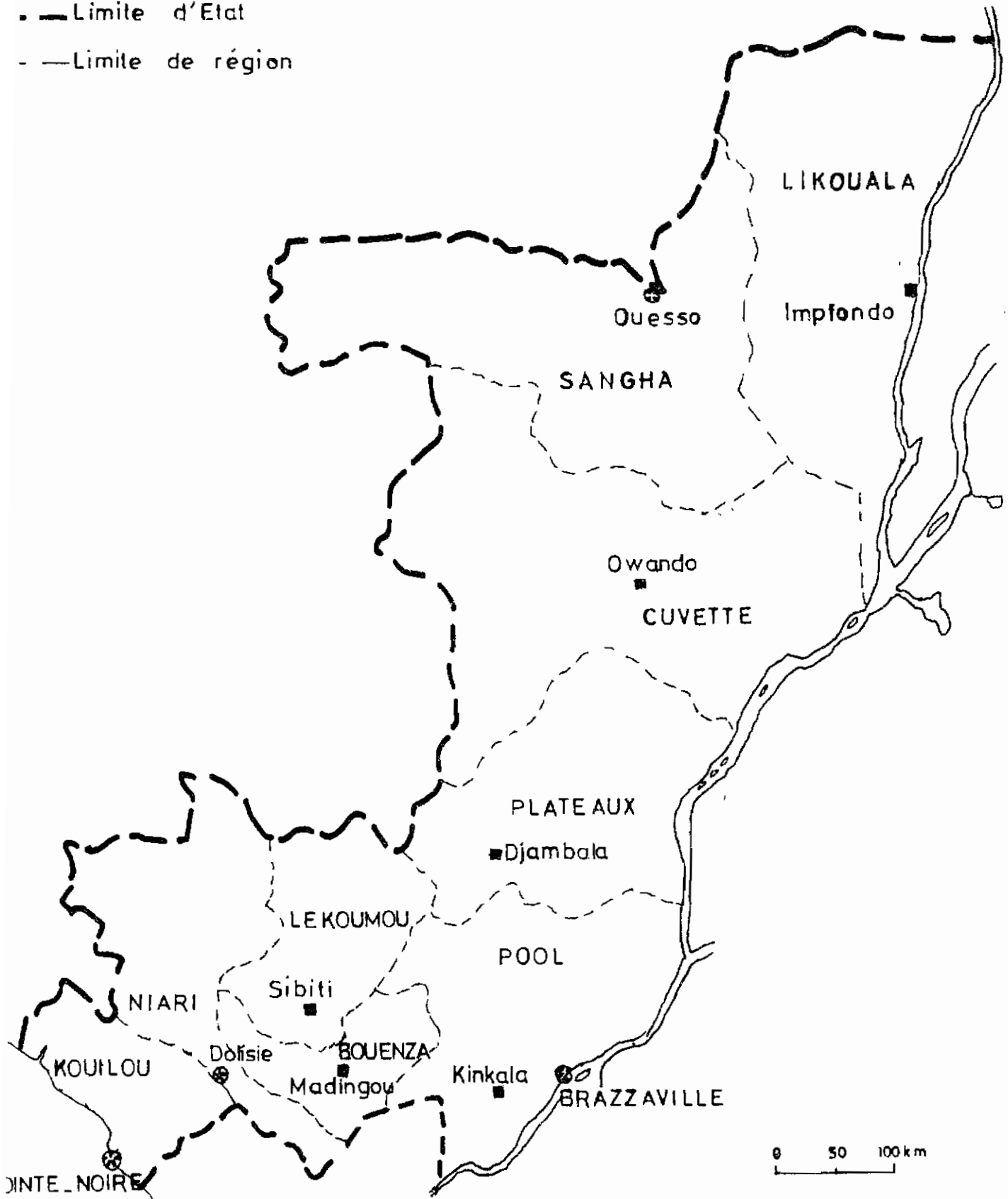


FIGURE 9: CARTE ADMINISTRATIVE DU CONGO  
(Extrait INRAP/ONLP/EDICEF)

#### 4-2- Situation épidémiologique du paludisme au Congo.

##### 4-2-1- Les espèces plasmodiales (Carnevale 1972, Massiala 1992).

Trois espèces plasmodiales sont responsables du paludisme au Congo. Il s'agit de:

- Plasmodium falciparum;
- Plasmodium malariae;
- Plasmodium ovale.

L'absence de Plasmodium vivax est imputé à l'absence du caractère Duffy de la race noire.

Les infections observées au Congo sont en grande partie dues à une seule espèce plasmodiale. Les infections mixtes sont peu fréquentes et, les plus rencontrées sont les associations Plasmodium falciparum-Plasmodium ovale, et Plasmodium falciparum-Plasmodium malariae.

Les études effectuées par Carnevale à Djoumouna, village situé à environ 20 kilomètres de Brazzaville, appartenant à une zone réputée être de forte transmission palustre au Congo, ont permis d'établir sur deux groupes d'enfants, l'un constitué d'enfants d'âge pré-scolaire et l'autre constitué d'enfants d'âge scolaire, la formule parasitaire inscrite dans le tableau II ci-après.

Espèces plasmodiales	Enfants d'âge pré-scolaire		Enfants d'âge scolaire	
	Effectif	Frequence en %	Effectif	Frequence(%)
P. falciparum	284	89,6	871	90,1
P. ovale	21	6,6	75	7,8
P. malariae	12	3,8	20	2,1
Total	317	100	966	100

Tableau II: Formule parasitaire d'enfants d'âge scolaire et d'âge non scolaire à Djoumouna.

Source: Carnevale, Document non publié de la DMP(Direction de la Médecine Préventive.)

Les résultats du tableau II sont proches de ceux obtenus lors de l'enquête de 1990 effectuée par l'équipe de Carme et collaborateurs à Brazzaville et Owando (tableau III ci-dessous).

Espèces plasmodiales	Effectif	Frequence en %
P. falciparum	321	83,1
P. malariae	20	5,2
P. ovale	30	7,8
P. falciparum+malariae	6	1,6
P. falciparum + ovale	9	2,3
Total	386	100

Tableau III: Fréquence des espèces plasmodiales et de leur association enregistrée pendant l'enquête de 1990 à Brazzaville et Owando.

Source: Carme, 1990 (Etudes de Brazzaville et d'Owando) dans Massiala 1992.

Il découle de ces études que Plasmodium falciparum est de loin l'espèce la plus repandue au Congo est la principale espèce pathogène à l'origine du paludisme, suivi dans la majeure partie du pays de Plasmodium ovale excepté dans le Mayombe(forêt) où Plasmodium malariae est rencontré en plus grande fréquence (Richard et coll,1988).

4-2-2- Les Vecteurs (Carnevale,1979; Massiala,1992; Miakassissa,1986  
Trape et Zoulani,1987)

De nombreuses études entomologiques effectuées au Congo, notamment celles de Trape, Fiasson, Lacan et Carnevale, rapportées par Carnevale, ont permis la connaissance de la faune anophelienne du pays telle qu'elle est indiquée au tableau IV. Les mêmes études ont également permis de connaître la répartition géographique de différentes espèces.

Par contre la documentation existante n'a pas permis de connaître la proportion exacte de chaque espèce dans l'ensemble du pays. Seules les études de Carnevale (1979 -1980) ont donné une indication sur le pourcentage de chacune des espèces existant dans la zone d'étude de Djoumouna. Ces pourcentages sont indiqués dans la dernière colonne du tableau IV.

Espèces anophéliennes	Biotopes	Répartition géographique/Auteur	% espèces à Djoumouna
<u>Anophele gambiae</u>	Mosaïque forêt-savane arbustive principalement proche des gîtes larvaires ensoleillées, proche de petites rivières en décrues et dans les zones d'élevage	Vecteur majeur se retrouve sur toute l'étendue du pays avec dominance dans les centres urbains. Il a été signalé par plusieurs auteurs tels que Trape, Carnevale	89,6
<u>Anophele moucheti</u>	Près des eaux apparemment immobiles et lentes notamment le long de grandes rivières ou des fleuves	Tout le long du fleuve Congo et de son affluent l'Oubangui et d'autres, des rivières	7,1
<u>Anophele funestus</u>	Même biotope que <u>Anophele gambiae</u> avec la particularité d'être rare en zone de forêt et fréquent en zone de savane arbustive.	-	2,2
<u>Anophele nili</u>	Près des rivières, dans la forêt-galerie peu épaisse	Il a été signalé dans le Nord Congo en 1966 par Hamonet et Coz à Okoyo et Sembé et dans le sud ouest du Congo par Bitsindou, Lacan et Taufflieb (localités Pointe-Noire, Mvouti, Sibiti, Kibangou, Brazzaville, Madingo-Kayes, Divenié, Boko, Nsitu, Mouyondzi, Mayama, Kibossi, Linzolo)	très faible 0,3
<u>Anophele paludis</u>	Zone de forêt	Il a été signalé dans la région de la Sangha par J. Adam (localités de Bolozo, Elogo, Fort Soufflay Paris et Kelembelé)	très faible 0,5
<u>Anophele hancocki</u>	-	-	très faible 0,35

Tableau IV: Présentation des espèces anophéliennes au Congo et à Djoumouna.

#### 4-3- Situation de la chimiosensibilité de Plasmodium falciparum au Congo.

##### 4-3-1- Apparition de la baisse de la chimiosensibilité.

On estime que c'est de 1985 que date l'apparition de la baisse de la chimiosensibilité de P.falciparum aux antimalariques au Congo. En effet, durant le premier trimestre de cette année, il fut identifié in vitro, en France, le premier cas de résistance en provenance du Congo (Le Bras et coll,1985). Ceci a motivé par la suite, la réalisation d'une série d'enquêtes menées sur le terrain dans le but de confirmer et d'évaluer cette baisse de sensibilité.

##### 4-3-2- Evaluation de la baisse de la chimiosensibilité (Carme et coll,1985).

D'avril 1985, date des premières enquêtes sur la baisse de chimiosensibilité de P.falciparum aux antimalariques jusqu'en février 1993, date de la présente étude, il a été effectué dans 9 localités du pays (figure 10) et principalement à Brazzaville, un total de 11 enquêtes. Ces études ont concerné les enfants congolais et étrangers, âgés de 3 mois à 15 ans, au niveau des centres de santé infantile et maternelle, des écoles et des centres hospitaliers. Elles ont porté sur l'étude de 4 produits couramment utilisés, à savoir:

- la chloroquine (Carme et coll,1986);
- l'amodiaquine (Carme et coll,1987);
- la quinine (Carme et coll,1991d);
- l'association sulfadoxine-pyriméthamine(Carme et coll,1991c).

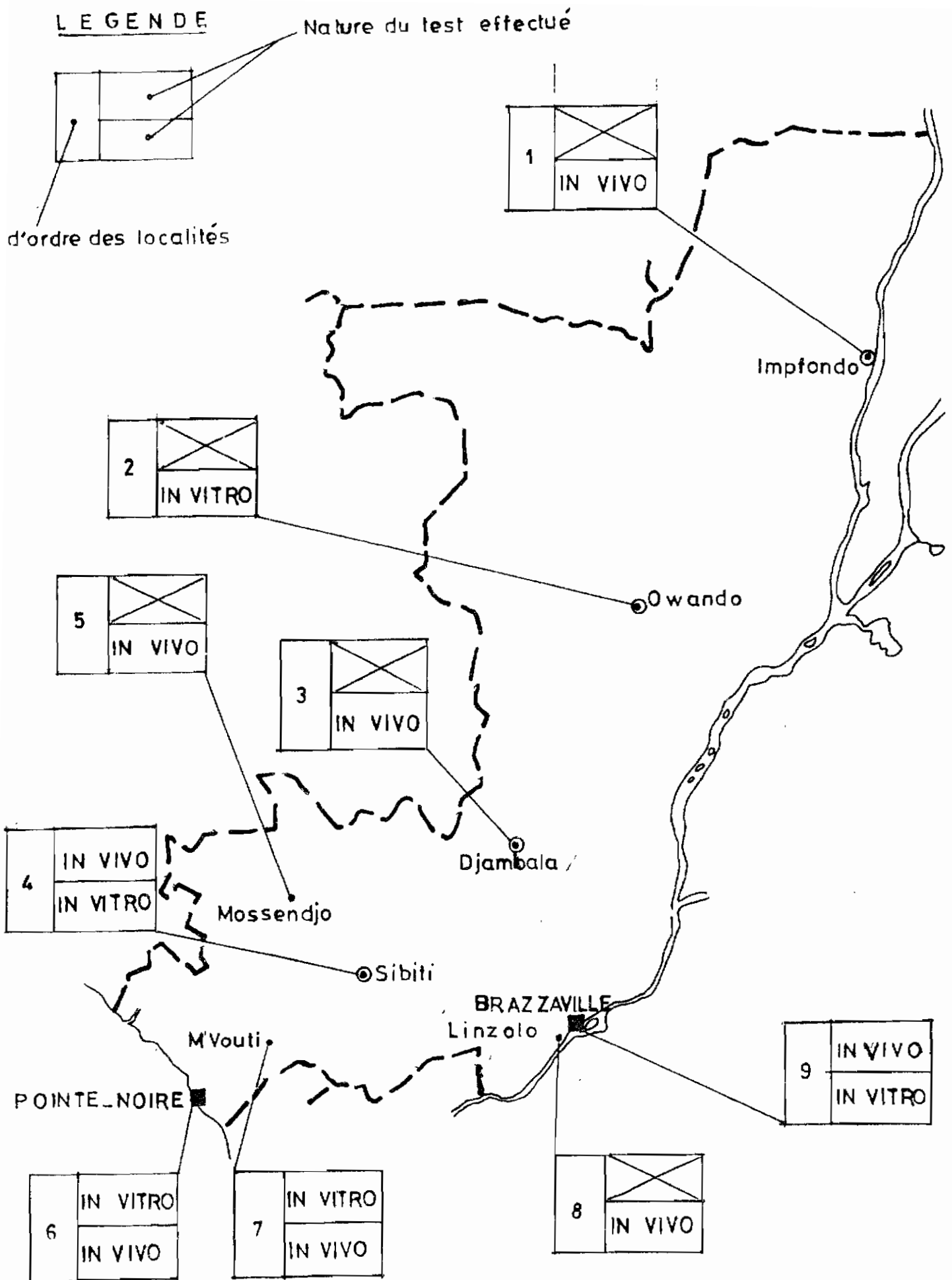


Figure 10 : Répartition géographique des tests de surveillance de la chimiosensibilité de *P. FALCIPARUM*

(Septembre 1985 - 1990)

Et plus récemment sur la méfloquine et l'halofantrine (Carme et coll, 1993).

Les enquêtes mentionnées ci-dessus ont utilisé les techniques in vivo (tableau V) ou in vitro (tableau VI). Deux ont utilisé les 2 techniques, il s'agit des enquêtes portant les numéros 4a et 5a du tableau V ci dessus. Les résultats obtenus lors des précédentes enquêtes ont permis d'établir:

- pour les amino-4-quinoléines (amodiaquine et chloroquine): que la baisse de la chimiosensibilité est apparue à des taux d'emblée élevés avec une répartition hétérogène sur l'étendue du pays où l'on observe une forte implantation de ce phénomène au sein de la population locale à Brazzaville et au sud du pays, tout au moins pour la chloroquine (30-60 %). Cette implantation est moins importante dans la partie nord du pays du fait de l'enclavement et du faible peuplement avec un taux moyen estimé à 28,5 % pour la chloroquine (Carme et coll. 1991). On a observé une stabilisation du phénomène de résistance en ce qui concerne les amino 4 quinoléines avec une diminution pouvant être envisagée tout au moins pour l'amodiaquine à Brazzaville (Carme et coll, 1991b).

- pour la quinine: une apparition plus tardive de la baisse de chimiosensibilité avec des taux de résistance relativement moins élevés que les amino-4-quinoléines.

- pour les amino-aryl-alcools (mefloquine et halofantrine): une apparition plus récente de la baisse de chimiosensibilité par rapport aux autres groupes de schizonticides ayant fait l'objet d'études dans les différentes enquêtes. Toutefois, les taux de



résistance restent faibles.

Enquête	Date	Localité	Produits	Posologie en mg/kg	% de résistance	Sources/Auteurs
1	Avril 1985	Linzolo	CQ	10	20	Carme
2	Octobre - Novembre 1985	Brazzaville	CQ	10	59,1	Carme
		Chaillu	CQ	10	57,1	
		Mayombe	CQ	10	74,1	
		Brazzaville	CQ	25	40	
		Chaillu	CQ	25	29	
		Likouala Mayombe	CQ CQ	10 et 25 25	1 seul cas 28,8	
3a	Déc. 1985	Brazzaville	AQ	25	26,3	Carme
4a	premier se- mestre 1986	Pointe- Noire	AQ	25	2/11	Simon
			CQ	25	4/13	
5	Novembre 1986	Brazzaville	AQ	25	21,2	Carme
		Brazzaville	CQ	25	38,7	
7	Avril-Mai 1988	P/Noire Niari	CQ	25	50	Carme
			CQ	25	55,3	
8	Nov 1988 Mars 1989	Brazzaville	SP	S = 25 P = 1,25	5	Carme
10	10/Mai/1989	Plateaux	CQ	25	29	Carme

Tableau V: Bilan des études de la baisse de chimiosensibilité in vivo de P. falciparum menées au Congo.

Enquête	Date	Localité	Produits	Posologie en mg/kg	% de resistance	Auteurs(Année)
4b	1985	Brazzaville	CQ	22	59	Le Bras (1985)
		Brazzaville	AQ	22	18,2	
		Brazzaville	Q	22	0	
5b	1986	Pointe-Noire	CQ	44	82	Simon 1987
			AQ	44	29	
			Q	44	3	
			H	24	0	
7b	1987	Brazzaville	CQ	50	60	Brandicourt (1991)
			Q	54	0	
			MQ	55	0	
		Mayombe	CQ	65	48,3	
			Q	66	4,5	
			MQ	16	0	
		Owando	CQ	47	28	
			Q	44	2,3	
11	1990	Brazzaville	CQ	63	41,3	Carne (1991b)
			Q	74	12,2	
			MQ	64	9,4	
			H	67	4,7	
		Owando	CQ	39	20,5	
			Q	36	2,8	
			MQ	45	0	
			4	41	0	

Tableau VI: Bilan des études de chimiosensibilité in vitro de P.falciparum menées au Congo.

**CHAPITRE V: L'ENQUETE**

L'enquête s'est déroulée du 3 au 15 février 1993.

### 5-1- Organisation.

#### 5-1-1- Personnel.

Le personnel était constitué de 5 participants permanents et de 10 participants intervenant par roulement en fonction des disponibilités. Au total 15 personnes ont participé à la réalisation de cette enquête. La composition de l'équipe était la suivante:

- \* 3 Médecins, dont:
  - 1 Médecin parasitologue, Chef de service au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie au Centre Hospitalier Universitaire de Brazzaville(CHUB) et Responsable des enseignements de parasitologie à l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé(INSSSA) assurant la supervision de l'enquête;
  - 1 Médecin parasitologue Adjoint au Chef de service au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie au CHUB et Enseignant de parasitologie à l'INSSSA;
  - 1 Médecin responsable du Programme National de Lutte contre le Paludisme au Congo(PNLP);
- \* 1 Pharmacien biologiste, assistant au Service de Parasitologie du Centre Hospitalier Universitaire régional de la ville d'Amiens en France;
- \* 1 Biologiste, chercheur au Centre d'Etudes et des Recherches Végétales(CERVE) de Brazzaville responsable de la pratique de test in vitro de Plasmodium falciparum;
- \* 1 Etudiant en Pharmacie à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Bamako au Mali dont la présente étude constitue le

sujet de la thèse;

\* 9 Techniciens de Laboratoire répartis comme suit:

- 7 appartenant au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie du CHUB;
- 1 appartenant au Laboratoire de Parasitologie de l'INSSSA;
- 1 appartenant au PNL.

#### 5-1-2- Equipement.

L'équipe a bénéficié pour la réalisation de l'enquête de:

- 1 véhicule mis à sa disposition par le Service des Grandes Endémies, Direction de la Médecine Préventive;
- 1 salle de classe, mobilier nécessaires et listes des élèves fournis par la Direction de l'Ecole primaire Ngaliema;
- petit matériel et réactifs financés par le Service Culturel de la Mission Française de Coopération et d'Action Culturelle à Brazzaville et le service du Professeur Gentilini à Paris;
- 1 groupe électrogène, 3 microscopes;
- 1 salle climatisée au sein du Service de Parasitologie et de Mycologie du CHUB disposant de toutes les structures nécessaires pour la culture de parasites, mise en place en 1988 par le Professeur Carme. Cette salle renferme une hotte à flux laminaire, une centrifugeuse, deux microscopes optiques, un incubateur, un congélateur 20 degrés et un dispositif de distillation d'eau.

## 5-2- Réalisation.

### 5-2-1 Lieu de l'enquête.

Brazzaville (Figure XI) est situé le long du fleuve Congo en face de la ville de Kinshasa capitale de la République du Zaïre.

Brazzaville a une population estimée entre 600.000 et 700.000 habitants. Elle est administrativement divisée en 7 arrondissements qui sont:

- Arrondissement I Makelekelé;
- Arrondissement II Bacongo;
- Arrondissement III Poto-Poto;
- Arrondissement IV Moundali;
- Arrondissement V Ouenzé
- Arrondissement VI Talangai
- Arrondissement VII Mfilou.

L'enquête a lieu dans l'arrondissement VII Mfilou, précisément dans le quartier Massina (Figure XI) à l'Ecole primaire Ngaliéma.

Le choix de ce lieu a été motivé par le fait que cette zone soit connue comme étant l'une des plus impaludées de Brazzaville (Trapes 1987). L'école a par ailleurs déjà servi de lieu d'enquête en 1990.

### 5-2-2- Population étudiée.

La population étudiée était essentiellement composée des enfants inscrits en classe de cours préparatoire 1ère année (CP 1).

Six classes de 90 à 110 élèves chacune ont été étudiées.

LIEU D'ENQUETE

ARRONDISSEMENT 7 (MFILOU)  
Quartier Massina  
Ecole Primaire NGALIEMA



Figure 31. Carte d'Intensité de transmission du paludisme à Bréasville ( Source: TRAPE ET ZOULANI. 1987. Localisation du lieu d'enquête de février 1993.

### 5-2-3- Méthodologie.

a) Quelques jours avant le début de l'enquête, une prise de contact avec le Directeur de l'école et les enseignants chargés d'encadrer les six classes a été effectué afin de les informer des objectifs et de la méthodologie de cette étude.

b) Durant l'enquête, chaque matin à notre arrivée, un dispositif de travail était mis en place; les tâches étant réparties par poste.

Au total 5 postes étaient mis en place:

- Poste I: appel;
- Poste II: Réalisation des frottis sanguins;
- Poste III: coloration des frottis sanguins;
- Poste IV: lecture;
- Poste V: traitement.

Poste I, appel: c'est avec les listes alphabétiques des élèves de chacune des classes consultées qu'est fait l'appel. Afin de bien les identifier, les élèves présents à l'appel sont identifiés, un numéro inscrit sur un morceau de sparadrap placé sur le revers de leur main. Ce même numéro est porté devant le nom de l'élève sur la liste et sur les frottis.

Poste II, réalisation des frottis sanguins: les élèves sont prélevés à la pulpe du doigt. Un frottis est confectionné conformément à la technique décrite au <sup>l'annexe</sup> ~~chapitre~~ I. Pour accélérer le séchage des frottis, on utilise un sèche cheveux.



Poste III, coloration des frottis sanguins: les frottis confectionnés sont colorés au Giemsa rapide (RAL 555 Rhône Poulenc\*).

Technique de coloration au RAL 555

Le coffret de RAL renferme 3 solutions:

La solution I constitué par le méthanol pur qui est le fixateur. Le frottis y est plongé pendant une minute, puis est retiré et séché.

La solution II qui est l'éosine. Le frottis fixé est trempé 3 fois de suite en une seconde dans cette solution, puis est rincé à l'eau du robinet et égoutté sur du papier.

La solution III qui est le bleu de méthylène. Après les étapes précédentes, le frottis est trempé 5 fois successivement dans cette solution, puis rincé à l'eau courante, égoutté et séché au sèche cheveux.

Poste IV, lecture: les lames colorées sont immédiatement lues sur le terrain. Cette lecture d'évaluation de la parasitémie est au départ faite sur 20 champs (détermination des parasitémies compatibles avec une mise en culture) pour se poursuivre au delà sur 50 champs si la parasitémie est très faible ou nulle après 20 champs.

### Détermination de la parasitémie

En moyenne, il est estimé à 200 le nombre d'hématies contenu dans un champs optique soit 4000 hématies pour 20 champs et 10.000 hématies pour 50 champs.

La proportion d'hématies parasitées par le nombre de champs observés, plus précisément par le nombre d'hématies contenu dans les champs observés constitue la parasitémie dont les résultats sont exprimés en %.

Exemple; Pour 20 champs si 4 hématies sont parasitées:

4000 hématies(20 champs) \_\_\_\_\_ 100 %

$$4 \text{ hématies} \text{-----} X = \frac{4 \times 100}{4000} = 0,1 \%$$

Pour 50 champs si on observe 10 Hématies parasitées:  
10.000 hématies(50 champs) \_\_\_\_\_ 100 %

$$10 \text{ hématies} \text{----} X = \frac{10 \times 100}{10.000} = 0,1 \%$$

Conduite pratique après lecture:

Les enfants qui présentent un frottis:

- \* négatif, sont immédiatement libérés;
- \* positif, sont dirigés vers le poste V.

Poste V, traitement: avant la prise du traitement à la chloroquine qui est fait sous le contrôle d'un enquêteur en charge des traitements, une prise de température au niveau de la bouche et une pesée sur bascule électrique sont réalisées pour chaque élève à traiter.

Les poids obtenus permettent d'élaborer une posologie précise pour chacun d'entre eux sur 3 jours.

\* Les positifs avec présence de formes asexuées autre que le Plasmodium falciparum ainsi que leurs associations avec ce dernier

bénéficient du traitement à la chloroquine.

\* Les positifs avec présence des formes asexuées de P. falciparum sont traités à la chloroquine avec en plus pour les parasitémies supérieures ou égales à 0,2 % :

- une analyse des urines au Dill et Glasgow pour vérifier de l'absence de prise d'antipaludéen dans les 15 jours précédents.

#### Technique du Dill et Glasgow

Recueillir dans un tube propre 2 ml d'urine, puis ajouter 5 gouttes du réactif du Dill et Glasgow.

En présence des métabolites des antipaludéens dans les urines, on observe un virage au rose.

En absence des métabolites des antipaludéens dans les urines, il n'existe pas de virage.

- un prélèvement du sang veineux sous vide dans les tubes heparinés constituant des isolats destinés au test in vitro. Celui ci est fait suivant la technique du microtest isotopique dès le retour au laboratoire, en fin de matinée.

c) A J7, un contrôle de la parasitémie sur frottis mince est fait comme à J0.

Les élèves dont les frottis sont négatifs sont libérés tandis que ceux dont les frottis sont positifs subissent un prélèvement du sang veineux si la parasitémie est supérieure ou égale à 0,2 % et sont par la suite traités avec l'association sulfadoxine-pyriméthamine (Fansidar\*) en prise unique.

Les frottis négatifs sont tous rélus au laboratoire sur 200 champs microscopiques afin de rechercher une éventuelle parasitémie à J7.

d) Réalisation des tests in vitro.

La présente enquête a utilisé pour le test in vitro, la méthode du microtest Desjardins modifié (Pitié Salpêtrière). Les détails de cette technique se trouvent en annexe II.

5-3- Résultats.

5-3-1- Population visitée.

L'effectif des élèves visités lors de notre enquête est 541. Le tableau VII présente la répartition de cette population par âge et par sexe.

Sexe	Age					Total
	6	7	8	9	10	
Feminin	114	109	39	3	1	266 (49,2 %)
Masculin	126	98	46	5	0	275 (50,8 %)
Total	240	207	85	8	1	541 (100 %)

Tableau VII: Répartition par âge et par sexe de la population visitée.

5-3-2- Résultats parasitologiques.

La recherche du parasite dans le sang des enfants visités a permis de dégager dans un premier temps des informations sur les fréquences de différentes espèces plasmodiales dans la population visitée (Tableau VIII), ainsi que celles aux différentes parasitémies dans les infections à P. falciparum (tableau IX). Dans un deuxième temps, la répartition par âge des cas positifs et négatifs (tableau X), et la répartition par âge des enfants infectés par P. falciparum suivant les parasitémies faibles et fortes (tableau XI) ont pu être étudiées.

Espèces et associations plasmodiales	Effectifs	Fréquence en %
<u>Plasmodium falciparum</u>	187	90,33
<u>P. ovale</u>	16	7,73
<u>P. malariae</u>	2	0,97
<u>P. falciparum+P.ovale</u>	2	0,97
Total	207	100

Tableau VIII: Fréquence des espèces et associations plasmodiales enregistrées lors de l'enquête

Nombre de parasites/mm <sup>3</sup>	Effectifs	Fréquence en %
400	49	26,2
800	30	16,04
1200	23	12,29
1600	20	10,69
2000	9	4,81
2400	7	3,74
2800	3	1,60
3200	1	0,53
4000	7	3,74
5000	3	1,60
6000	1	0,53
8000	8	4,27
10000	2	1,07
12000	5	2,67
16000	2	1,07
20000	4	2,14
40000	10	5,34
80000	3	1,60

Tableau IX: Fréquence des différentes parasitémies à P. falciparum observées lors de l'enquête.

Statut	Age					Total
	6	7	8	9	10	
Positif	72	85	29	1	0	187(34,62 %)
Négatif	168	122	56	7	1	354(65,38 %)
Total	240	207	85	8	1	541 (100 %)

Tableau X: Répartition par âge de la population visitée selon le portage du Plasmodium.

$X^2$  comparant les 3 classes d'âge 6, 7 et 8 ans = 6,03 = non significatif.

Parasitémie	Age					Total
	6	7	8	9	10	
< 8000	52	75	25	1	0	153
>/ 8000	20	10	4	0	0	34
Total	72	85	29	1	0	187

Tableau XI: Répartition des élèves infectés par P. falciparum en faible et en forte parasitémie par âge lors de l'enquête.

$X^2$  comparant les 3 classes d'âge 6, 7 et 8 ans = 7,06 = non significatif.

Remarque: la parasitémie de 8000 parasites/mm<sup>3</sup>, déterminée comme seuil pyrogène pour cette classe d'âge par Richard et coll.(1988), est choisie arbitrairement pour dégager la notion de "faible" et "forte" parasitémie.

### 5-3-3- Résultats cliniques.

Nous nous sommes intéressé à la répartition de la parasitémie en fonction de la température présentée par les élèves au moment de la prise de sang (tableau XII). Le seuil de fébrilité est placé arbitrairement à 37,5<sup>0</sup> compte tenu du fait que les températures relevées s'étagaient de 36,1 à 39,1 <sup>0</sup>C.

Parasitémie	Température en degré C.		Total
	< 37,5	>/ 37,5	
< 8000	127	25	152
>/ 8000	21	13	34
Total	148	38	186

Tableau XII: Répartition ; des enfants infectés par *P. falciparum* suivant l'état de fièvre et la parasitémie présentée.

$\chi^2 = 7,93$ . Significatif  $p < 0,05$

### 5-3-4- Résultats du test *In vivo*.

A J0, 207 enfants tous porteurs de parasites ont été systématiquement mis sous traitement à la chloroquine (25 mg/kg).

A J1 et J2, nous avons respectivement noté par jour une présence de 150 et 110 enfants venus pour poursuivre le traitement.

A J7, jour de contrôle, seuls 61 enfants ont été présents, soit 29,46 % de l'effectif des enfants mis sous traitement à J0. Ce contrôle fait sur frottis mince, avec lecture à 200 champs



microscopiques a permis d'identifier 13 enfants présentant encore une parasitémie positive à J7, soit 21,3 % de l'effectif contrôlé réparti comme suit en fonction de la parasitémie (tableau XIII).

Nombre de parasites/mm <sup>3</sup>	Effectif enfants parasités
100	6
200	2
300	1
400	1
600	1
4000	1
8000	1

Tableau XIII: Répartition des différentes parasitémies observées à J7.

Il convient d'indiquer que pour 11 de ces enfants, la parasitémie à J7 a été inférieure à celle de J0. Quant aux 2 restants, il nous est impossible d'apporter des observations car il s'agit des associations P. ovale - P. falciparum pour lesquels nous n'avons pas calculé la parasitémie à J0.

#### 5-3-5- Résultats du test in vitro.

Les cultures ont en majorité été réalisées avec le sang des sujets asymptomatiques présentant une parasitémie supérieure ou égale à 0,1 %, soit 4000 parasites/mm<sup>3</sup>. Exceptionnellement, il a été inclu 3 souches non conformes aux critères ci-dessus. Ces souches se répartissent comme suit:

- une souche ayant présentée une parasitémie de 3200 parasites/mm<sup>3</sup> soit 0,08 %;

- deux souches issues d'enfants fébriles n'appartenant pas à l'école venus se faire consulter par l'équipe. Ces deux sujets ont été après examen parasitologique trouvés porteurs de P. falciparum avec des parasitémies compatibles à la mise en culture.

C'est ainsi qu'à J0 un total de 47 souches ont été prélevées.

Une des souches ayant coagulée lors du transport au laboratoire, la mise en culture n'a pu être faite que pour 46 souches.

Il a été observé tel que l'indique le tableau XIV que:

- 12 souches ont présenté des problèmes de culture sur une ou plusieurs des drogues testées.

Une relation avec la parasitémie de départ est trouvée lors de l'analyse de ce tableau ( $\chi^2$  de Yates = 1,14).

	Parasitémie de départ		Total
	< 0,2 %	>/ 0,2 %	
Pas de problème de culture	7	27	34
Problème de culture	5	7	12
Total	12	34	46

Tableau XIV: Répartition des souches ayant et n'ayant pas posé des problèmes de culture en fonction de leur parasitémie de départ.

Pour les souches qui n'ont pas eu des problèmes de culture, le tableau XV ci-après donne pour chaque drogue testée les résultats obtenus.

Drogues testées	Nombre de souches	CI50 moyen (nmol/l)	Ecart type (nmole/l)	Valeurs extrêmes des CI50 (nmole/l)
chloroquine	34	153,96	113,6	8,9 - 431,4
quinine	34	202,43	152,47	48,777 - 786,111
méfloquine	34	5,3	4,64	0,221 - 23,269
halofantrine	35	0,89	0,57	0,197 - 2,517

Tableau XV: Résultats par drogue testée des isolats de P. falciparum mis en culture in vitro.

Afin de permettre une distribution des isolats de P. falciparum selon leur degré de sensibilité, on se réfère pour chaque drogue aux valeurs "seuil" de CI50 dites valeurs critiques.

Tous les isolats possédant une CI50 supérieure ou égale à ces valeurs sont considérés comme résistants. Les chiffres 100, 350, 30 et 5, tous exprimés en nmole/l sont respectivement les valeurs de seuil critique de la chloroquine, de la quinine, de la méfloquine et de l'halofantrine. Conformément à ces valeurs nous avons procédé à la distribution pour chaque drogue des isolats de P. falciparum selon leur degré de sensibilité comme indiqué dans les tableaux ci- après.

	Sensible	Résistant	Total
Effectif	13	21	34
%	38,2	61,8	100

Tableau XVIa: Distribution des isolats selon le degré de sensibilité à la chloroquine au seuil critique de 100 nmole/l.

	Sensible	Résistant	Total
Effectif	29	5	34
%	85,3	14,7	100

Tableau XVIIb: Distribution des isolats selon le degré de sensibilité à la quinine au seuil critique de 350 nmole/l.

	Sensible	Résistant	Total
Effectif	34	0	34
%	100	0	100

Tableau XVIIc: Distribution des isolats selon le degré de sensibilité à la méfloquine au seuil critique de 30 nmole/l.

	Sensible	Résistant	Total
Effectif	35	0	35
%	100	0	100

Tableau XVIId: Distribution des isolats selon le degré de sensibilité à l'halofantrine au seuil critique de 5 nmole/l.

Quatre résistances croisées chloroquine-quinine ont par ailleurs été observées.

#### 5-3-6- Résultats comparés des souches ayant fait à la fois l'objet des test in vivo et in vitro.

Des 61 enfants testés in vivo sur 3 jours, 12 avaient présenté à J0, une parasitémie compatible à la culture. De ces 12 tests in

vitro réalisés, seuls 6 ont été interprétables et ont donné les résultats suivants:

- une souche sensible à la fois in vitro et in vivo (CI50 = 91,98 nmole/l);
- une souche à la fois résistante in vivo et in vitro (CI = 431 nmole/l);
- trois souches résistantes in vitro (CI50 = 312, 205, 338 nmol/l) avec un frottis négatif à J7 après une lecture sur 200 champs microscopiques;
- une souche sensible in vitro (CI50 = 22,5 nmole/l) retrouvée positive à J7 avec une parasitémie ayant permis la remise en culture. Le tableau XVII ci-après donne les résultats de culture avant et après traitement.

	chloroquine	quinine	méfloquine	halofantrine
CI50 de culture à J0 (en nmol/l)	22,5	104,05	5,63	1,58
CI50 de culture à J7 (en nmol/l)	343,6	245,8	7,63	0,71

Tableau XVII: Evolution des CI50 d'une souche de P. falciparum avant et après traitement par la chloroquine.

En plus de ces six souches, une souche trouvée avec une parasitémie mixte à P. falciparum - P. ovale à J0 et qui n'a plus bénéficiée d'une mise en culture a été retrouvée positive à J7 avec une parasitémie de 4000 parasites/ul, ce qui a justifié sa mise en culture.

Cette culture a donné les résultats suivants:

- chloroquine, CI50 = 348,7 nmole/l;
- quinine, CI50 = 260,9 nmole/l;
- méfloquine, CI50 = 3,8 nmole/l;
- halofantrine, CI50 = 0,93 nmole/l.

**CHAPITRE VI: DISCUSSIONS.**

Nous avons tenu en février 1993, comme il est prévu tous les 3 ans en République du Congo depuis 1987, à faire une mission d'évaluation du niveau de sensibilité de P. falciparum aux antimalariques. Quatre molécules ont été choisies comme en 1990 pour le test in vitro (chloroquine, quinine, méfloquine, halofantrine) auquel il a été associé un test in vivo à la chloroquine (25 mg/kg).

Pour des raisons d'ordre financier, nous avons limité notre enquête à Brazzaville, contrairement à celle de Carme et coll. en 1990 qui s'est déroulée à Brazzaville ainsi qu'à Owando et à celle de Brandicourt et coll. en 1987 qui s'est déroulée dans les 2 localités précitées et dans le Mayombe.

Dans l'intention d'obtenir des résultats susceptibles d'être comparés à ceux des deux enquêtes ci-dessus citées, nous avons exécuté notre enquête dans les mêmes conditions épidémiologiques (échantillon pris d'une population comparable) et techniques (microtest isotopique fait selon le même protocole) que les dites enquêtes. Bien que la transmission du paludisme au Congo soit permanente et continue, donc peu sensible aux variations saisonnières, nous avons tenu également à respecter la date du mois de février comme pour les enquêtes de 1987 et 1990.

Afin de procéder aux tests in vivo et in vitro, nous avons effectué une recherche systématique du paludisme chez les enfants visités, recherche à l'issue de laquelle 34,62 % de ces enfants ont été trouvés porteurs de parasites. Ce taux est différent de celui obtenu au cours d'une enquête épidémiologique réalisée dans la même



école, faisant état de 78,9 % de porteurs asymptomatiques (Trape, 1987). Cette différence de taux s'explique par le fait que nos résultats indiquent le pourcentage d'enfants porteurs d'au moins 400 parasites/mm<sup>3</sup> obtenus des lectures effectuées sur 50 champs microscopiques visant à détecter rapidement des parasitémies compatibles avec les cultures in vitro des Plasmodium (minimum 0,2 %). Tandis que celui de l'enquête épidémiologique sus-mentionnée, indique l'indice plasmodique. après lecture sur 8000 leucocytes des gouttes épaisses.

Nous avons voulu connaître, s'il existe un lien entre les différents caractères inscrits dans les tableaux X, XI, XII, de nos résultats; pour cela nous avons pratiqué le test de  $X^2$  à  $p = 0,05$ .

C'est ainsi qu'il a été trouvé:

- pour le tableau X, qu'il existe une relation de dépendance entre l'âge et la présence de parasites au seuil de 400 parasites mm<sup>3</sup>. Cette information est également retenue pour l'âge et la parasitémie figurant au tableau XI, constat identique à celui fait pendant une enquête épidémiologique dans un village proche de Brazzaville, Linzolo (Trape et coll, 1985);

- pour le tableau XII, qu'il n'existe pas de relation entre la fièvre et la parasitémie, comme s'embloit déjà indiqué une étude faite au Mayombe, région forestière du Congo (Richard et coll, 1988).

Le test in vivo à la chloroquine (25 mg/kg) que nous avons exécuté sur les élèves asymptomatiques porteurs de parasites, donne un taux de résistance de 21,3 %. La comparaison faite entre ce

résultat et ceux obtenus des enquêtes réalisées dans les conditions identiques à la nôtre, en avril 1985 (40 %), en novembre 1986 (38,7 %) et en février 1990 (34 %) à Brazzaville (Louis et coll, 1992b), ne révèle pas les différences significatives à  $p = 0,05$ . Ce constat permet de réaffirmer la stabilisation de l'évolution de la chloroquino-résistance amorcée depuis 1986, après une apparition à un taux d'emblée élevé, ce qui crédite l'observation faite sur l'évolution vers une stabilisation de la chloroquino-résistance en Afrique après une période d'élévation brutale de la proportion de résistance des souches à la chloroquine (Le Bras et Ringwald, 1990).

S'agissant du test in vitro, nous avons, afin d'éviter des problèmes de culture, pris des précautions qui consistaient à empêcher toutes souillures et autres indélicatesses susceptibles d'entraver le bon déroulement des cultures.

Malgré les précautions prises, on a dénombré sur les 46 souchesensemencées, 13 souches (38,2 %) qui ont présenté des problèmes de culture. Pour vérifier si les pertes enregistrées avaient un lien avec les parasitémies de départ des souchesensemencées, nous avons fait recours au test de  $\chi^2$  sur les résultats inscrits au tableau XIV. Ce test nous indique qu'il n'existe pas de liens entre les deux caractères étudiés. Il convient de mentionner que, comme nous, Carne et coll. en 1990 (Massiala, 1992) avaient enregistré des pertes de l'ordre de 27,2 à 32,5 % suivant les drogues; pour expliquer ces pertes, la raison du transport des plaques de culture avait été évoquée. Il n'est pas exclu, que cette raison puisse justifié en partie nos pertes,

d'autant plus que les mêmes problèmes ont été rencontrés par Chippaux au Bénin (Chippaux et coll, 1989) et que Gay, bien qu'il n'ait pas connu d'incidents notables sur ses cultures à Pitié Salpêtrière reconnaît néanmoins que le transport des plaques présente des difficultés (Gay et coll, 1991). Dans l'actif des causes susceptibles de justifier nos pertes, on peut prendre en compte les limites du test in vitro au sujet de la conservation des échantillons (cf. limites du test in vitro).

Les résultats de la lecture des échantillons qui n'ont pas connu des problèmes de culture font état :

- d'une faible sensibilité des souches testées à la chloroquine, puisque 61,8 % des souches testées ont une CI50 % supérieure au seuil de 100 nmole/l;
- d'une bonne sensibilité des souches testées à la quinine avec seulement 14,7 % des souches testées ayant une CI50 supérieure à 350 nmole/l;
- d'une très bonne sensibilité des souches testées à la méfloquine et à l'halofantrine, puisqu'aucune CI50 des souches testées ne dépasse respectivement les seuils de 30 et de 5 nmole/l.

Les études comparatives par le test de  $X^2$ , à  $p = 0,05$  entre nos résultats et ceux des études antérieures [ceux de Brandicourt et coll. en 1987 au sujet de la chloroquine ( $X^2 = 3,7$ ) d'une part et ceux de Carme et coll. en 1990 au sujet de la chloroquine ( $X^2 = 0,025$ ), quinine ( $X^2$  de Yates = 0,165), méfloquine ( $X^2$  de Yates = 2,066) et l'halofantrine ( $X^2$  de Yates = 0,477), d'autre part] n'ont pas révélé de différence significative; ce qui permet de conclure

globalement à une stabilisation de l'évolution de la chimiorésistance in vitro.

S'agissant de la chloroquino-résistance, la conclusion faite in vitro vient confirmer celle faite in vivo plus haut. Cette stabilisation de la chloroquino-résistance n'est pas surprenante si on se réfère au modèle mathématique de Brandicourt et Gentilini qui prévoit une stabilisation rapide des isolats résistants pour une proportion avoisinant 60 %, en zone de très haute transmission palustre (Carme et coll,1991d), comme c'est le cas de notre lieu d'étude (Trape et Zoulani,1987).

La stabilisation de la chloroquino-résistance au Congo a pour conséquence de maintenir le taux élevé des souches chloroquino-résistantes in vitro, comme c'est le cas au Cameroun depuis 1987 (Louis et coll,1992a) et de créditer le constat fait sur ce phénomène de stabilisation en Afrique (Le Bras et Ringwald,1990).

La résistance à la chloroquine et à la quinine dans notre étude témoigne d'une corrélation entre ces deux phénomènes. En effet, sur les 34 souches testées, 5 sont résistantes à la quinine et parmi elles 4 présentent une résistance croisée aux 2 produits.

Concernant l'halofantrino-résistance, nous tenons à apporter une critique aux surprenants résultats de la baisse de chimiosensibilité in vitro à l'halofantrine obtenus récemment par l'équipe de Brasseur dans une localité proche de Brazzaville (Djournouna). Contrairement à nos résultats qui font état d'une très bonne sensibilité des souches testées à l'halofantrine avec un taux de résistance nul, Brasseur et coll. ont enregistré un taux de

résistance à l'halofantrine de 54 % (6 souches sur 11 testées) [Brasseur et coll,1993a]. Notre critique porte sur:

- d'une part le fait qu'en prenant en compte la corrélation entre la résistance à l'halofantrine et à la méfloquine (Le Bras et coll,1993), il est inconcevable d'entrevoir un tel taux de résistance à l'halofantrine sans qu'il n'y ait d'incidence sur le taux de résistance à la méfloquine qui, dans cette étude de Brasseur est de 0 % (0 souches sur 12 testées);

- d'autre part, sur les raisons évoquées par Brasseur, notamment: la pression médicamenteuse, et le transfert des souches de P. falciparum résistantes de Brazzaville vers Djoumouna (Brasseur et Druilhe,1993b). Ces raisons font généralement partie de principales causes avancées pour expliquer l'apparition et le développement de la chimiorésistance (Carne et coll,1986), mais, dans cette étude de Brasseur, elles ne peuvent justifier ces résultats pour le simple fait que Brazzaville, censée présenter une forte pression médicamenteuse par rapport à Djoumouna ne connaît pratiquement plus de souches résistantes à l'halofantrine. Pour cette raison, il est impossible de penser à un transfert des souches résistantes à l'halofantrine de Brazzaville vers Djoumouna.

Le constat global évoqué plus haut sur la situation de l'évolution de la chimiorésistance au Congo, est identique à propos de trois antimalariques (chloroquine, quinine et méfloquine) à celui que dégagent les résultats d'une série d'enquête ayant utilisé la technique in vitro, menée à Yaoundé (Cameroun) entre 1987 et 1991 (Louis et coll,1992a).

Il est actuellement impossible de faire une analyse sur l'évolution de la chimiorésistance en Guinée Equatoriale et au Tchad, car les enquêtes d'évaluation de la baisse de chimiosensibilité des souches de P. falciparum aux antimalariques effectuées dans ces pays, sont très récentes (Louis et coll, 1992b) et n'ont pas encore connu de suivi. Néanmoins, la comparaison de ces résultats aux nôtres permet de conclure à une situation de chloroquino-résistance dont l'ampleur est de loin inférieure à celle du Congo.

Pour le reste des pays de l'OCEAC (Centrafrique et Gabon), les différentes enquêtes réalisées à travers ces pays ont permis de reveler l'implantation du phénomène de la baisse de chimiosensibilité des souches de P. falciparum aux antimalariques (Louis et coll, 1992b). Toutefois, il nous est difficile d'obtenir une information sur l'évolution de la chimiorésistance dans ces pays vu que les différentes études ont été réalisées dans les sites disparates avec parfois des techniques différentes et n'ont pas connu de suivi. Enfin, la comparaison de nos résultats in vivo et in vitro ne porte hélas que sur un nombre restreint des souches. On peut néanmoins observé que la corrélation entre ces deux techniques n'est obtenue que dans deux cas sur six. La différence observée pour les quatre autres isolats confirme la difficulté de tirer des conclusions en terme d'attitude thérapeutique de ces résultats: pour les trois premières souches chloroquino-résistantes in vitro, la logique aurait voulu que l'on traite ces patients par une autre molécule que la chloroquine. Ce produit a pourtant entraîné la

disparition des parasites à J7. A l'inverse dans le dernier isolat trouvé in vitro très sensible à la chloroquine, se trouvait probablement une clone résistante qui a été sélectionné par le traitement.

Ceci illustre à nouveau le problème des différences à maintenir entre résistance in vitro, résistance in vivo et échec thérapeutique (Desfontaine, 1990).

## **CONCLUSION**



Situé dans une zone de paludisme à transmission continue, le Congo a été très tôt touché par la baisse de sensibilité de P. falciparum aux antimalariques.

Compte tenu des multiples conséquences que ce phénomène entraîne sur la situation et la prise en charge du paludisme, il est nécessaire d'en suivre de près l'évolution par tous les moyens disponibles dans le pays.

La présente étude à laquelle nous avons eu la chance de participer, s'inscrit dans cette action de surveillance.

Les études in vitro, réalisées à intervalles réguliers depuis six ans dans les mêmes lieux, sur les mêmes populations et par les mêmes techniques, permettent d'apprécier la cinétique des résistances in vitro aux différents antimalariques. Avec 61,8 % de chloroquino-résistance, 14,7 % de quinine-résistance et une sensibilité entièrement conservée à la méfloquine et à l'halofantrine, les résultats de notre travail de 1993 confirment la tendance de 1990, à savoir la stabilisation du comportement in vitro des souches de P. falciparum face aux antimalariques dans un quartier fortement impaludé de Brazzaville.

Les 67 tests de chimiosensibilité in vivo à la chloroquine réalisés également lors de cette enquête vont dans le même sens.

Ces chiffres, ainsi que ceux obtenus par d'autres auteurs montrent qu'à faciès épidémiologique de paludisme stable correspond des taux de chimiosensibilité stable.

Dans un pays économiquement en difficulté comme l'est actuellement le Congo, cette stabilité est bien sûr un atout: elle

permet la mise en place plus aisée d'actions de lutte à long terme en limitant les actions de surveillance à l'activité des postes sentinelles disséminés dans le pays.

Ces options sont celles qui ont été retenues par le Programme National de lutte contre le Paludisme du Congo, et nous espérons qu'elles permettent de contrôler avec le plus d'efficacité possible ce fléau dans notre pays.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1- Baudon(D), Mouchet(J), Carnevale(P), Guiguemde(T.R).  
Evaluation de l'endémie palustre.  
'Paludisme', URF/ELLIPSES. Ed. Paris, 1991.
- 2- Beale(G.H).  
The genetics of drug resistance in malarial parasites.  
Bulletins de l'OMS, 1980; 58, 799-804.
- 3- Bitonti(A.J.), Sjoerrosma(A), Mc CAN-PP, Kyle(D.E), Oduola(A.M),  
Rossan(R.N), Milhous(M.K), Davidson(D.E) Jr.  
Reversal of chloroquine resistance in malaria Plasmodium falciparum by desipramine.  
Science, 1988; 242, (4883): 1301-1303.
- 4- Brandicourt(C), Carme(B), Gay(F), Turk(P), Gentilini(M)  
Widespread in vitro resistance to chloroquine of Plasmodium falciparum in the Congo, 1987.  
Tropened medecine und parasitologie, 1991, 42, p.55-59.
- 5- Brasseur(P), Bitsindou(P), Mouyou(R.S), Eggelte(T.A), Samba(G),  
Penchenier(L).  
Fast emergence of P.falciparum resistance to halofantrine.  
The Lancet., 1993a; 311; p. 901.
- 6- Brasseur(P), Druilhe(P), Author's replay.  
The Lancet, 1993b; 342; p.55-56.
- 7- Bruce-Chwatt(L.J), Back(R.H), Canfield(J.J), Clyde(D.F),  
Peters(W), Wernsdorfer(W.H).  
Chimiothérapie du paludisme. 2 ème Edition. OMS-Genève 1984.
- 8- Burchar(G.D), Hortsman(R.D), Wernsdorfer(R.D) et Dietrich(M).  
P.falciparum malaria: Resistance to chloroquine; but sensitivity to mefloquine in Gabon. A prospective in vitro study.  
Tropened medecine und parasitologie, 1994, 35, 1-4.
- 9- Carme(B), Benthelm(F), Moundzeo(H), Mbitsi(A), Madzou(G).  
Chimiorésistance de P.falciparum au Congo.  
I-Etude in vivo après 10 et 25 mg/kg de chloroquine(235 tests).  
Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 1986, 79; 490-502.
- 10- Carme(B), Mbitsi(A), Mbouni(E), Samba(Y) et Sakazebi(P).  
Etude de la sensibilité de P.falciparum à la sulfadoxine-pyriméthamine à Brazzaville(Congo).  
Médecine et maladies infectieuses 1991c, 21, 3-6.

- 11- Carme(B), Mbitsi(A), Moundzeo, Ndinga(M), Eozenou(P).  
Chimiorésistance de P.falciparum au Congo.  
II- Etude comparative in vivo de la chloroquine et de l'amodia-  
quine chez des écoliers brazzavillois(novembre 1986).  
Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 1987, 426-433.
- 12- Carme(B), Gay(F), Chandenier(J), Ndounga(M), Ciceron(L),  
Ebikili(B), Schmit(J.L), Gentilini(M).  
Unexpected trend in chemiosensitivity of Plasmodium in  
Brazzaville(Congo).  
The Lancet 1991b, 338, 582-583.
- 13- Carme(B), Moundzeo(H), Mbitsi(A), Ndounga(M), Samba(G).  
Stabilization of drug resistance(chloroquine and amodiaquine)  
of P. falciparum in semi immune populations in the Congo.  
The journal of infectious diseases 1991d, 164, 437-438.
- 14- Carme(B), Moundzeo(H), Mbitsi(A), Sathoukazi(C), Ndounga(M),  
Brandicourt(O), Gay(F), Le Bras(J), Gentilini(M).  
La résistance médicamenteuse de P.falciparum au Congo: bilan des  
enquêtes réalisées de 1985 à 1989.  
Bulletin de la Société de Pathologie Exotique 1990, 83; (2);  
228-241.
- 15- Carme(B), Ndounga(M), Chandenier(J).  
Can in vivo seveys in the chemiosensitivity of P. falciparum  
still be done in Tropical Africa?  
The journal of infectious diseases 1991c, 164, 828.
- 16- Carme(B), Dhellot(G), Senga(P), Nzingoula(S), Plassart(H).  
Efficacité de la quinine au cours des accès palustres de  
l'enfant hospitalisé à Brazzaville(Congo) en 1989.  
Annales de la société belge de médecine tropicale 1991a, 21,  
(1), 3-6.
- 17- Carnevale(P).  
Epidémiologie du paludisme en République Populaire du Congo.  
I- Le complexe Anopheles gambiae dans la région de Brazzaville.  
Cahier ORSTOM-Serie Entomologie Médicale et Parasitaire,  
1972, 10, (4), 281-286.
- 18- Carnevale(P).  
Le paludisme dans un village des environs de Brazzaville.  
Université Paris XI, Thèse 1979, n° 2175.
- 19- Charmot(G), Coulaud(J.P).  
Le traitement du paludisme à P. falciparum en Afrique(à l'exce-  
ption des formes pernicieuses).  
Médecine tropicale 1990, 50, (1), 103-108.

- 20- Charmot(G), Rodhain(F).  
La Chimiorésistance chez *P. falciparum*, analyse des facteurs d'apparition et d'extension.  
Médecine tropicale, 1982, 42, (3), 417-426.
- 21- Chevli(D.J), Fitch(C.D).  
The antimalarial drug mefloquine binds to membrane phospholipids.  
Antimicrobial agents and chemotherapy, 1982, 21, (5), 819-822.
- 22- Chippaux(J.P), Massougboja(A), Olliaro(B), Gay(F), Caligaris(S), Danis(M).  
Sensitivity in vitro of *P. falciparum* to chloroquine and mefloquine in two regions of Benin.  
Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1989, 83, 584-585.
- 23- Chou(A.C), Chevli(D.J), Fitch(C.D).  
Ferriprotoporphyrin IX fulfills the criteria for identification as chloroquine receptor of malaria parasites biochemistry, 1980, 19, 1543-1549.
- 24- Christian(K.S).  
Central African Republic: chloroquine resistant *falciparum* malaria.  
Unpublished doc. Peace corp/CDC, RCA, 27, 11, 84.
- 25- Cowman(A.F), Karz(S.R).  
The pfmdr gene homologue of *P. falciparum*.  
Acta leiden 1991, 60, (1), 121-129.
- 26- Danis(M).  
Clinique.  
Paludisme, UREF/Ellipses, Ed. Paris 1991a.
- 27- Danis(M).  
Médicaments antimalariques.  
Paludisme, UREF/Ellipses, Ed. Paris 1991b.
- 28- Desfontaine(M).  
Chimiorésistance de *P. falciparum* aux amino-4-quinoléines en Afrique centrale.  
Bulletin de liaison et documentation OCEAC n<sup>o</sup> spéciale janvier 1990.
- 29- Desjadins(R.E), Canfields(C.J), Haynes(J.P), Chulay(J.D).  
Quantitative assesment of antimalarial activity in vitro by a semi-automated microdilution technique.  
Antimicrobial agents and chemotherapy, 1979, 16, (6), 710-718.

- 30- Fitch(C.D).  
"Mode of action of antimalarial drugs" in malarial and red cell.  
Ciba foundation symposium 94.  
London pitman, Edition 1984.
- 31- Fitch(C.D), Chevli(R), Banayl(H.S), Phillips(G), Pfaller(M.A),  
Krogstad(D.J).  
<< Lysis of P. falciparum by ferriprotoporphyrin IX and a CQ-FP  
IX complex>>.  
Antimicrobial agents and chemotherapy, 1982, 21, (5), 819-822.
- 32- Foote(S.J), Kyle(D.E), Martin(R.K), Oduola(A.M), Forsyth(K),  
Cowman(A.F), Kemp(D.J).  
Several alleles of multidrug resistance gene are closely linkek  
to chloroquine resistance in P. falciparum.  
Nature 1990, 345, (6272), 255-258.
- 33- Foote(S.J), Thompson(J.K), Cowman(A.F), Kemp(D.J).  
Amplification of multidrugs resistance gene in some chloroquine  
resistant isolates of P. falciparum.  
Cell. 1989, 57, (7), 921-930.
- 34- Garnham(P.C.C).  
Malarial parasites and other hemosporidia.  
Oxford, Blackwell, Ed. 1966.
- 35- Gay(F), Goyet(F), Gibert(I), Wad, Ghoubontini, Brousse(G).  
Paludisme d'importation en France en 1989.  
Bulletin épidémiologique hebdomadiare, 1991, n<sup>o</sup> 26.
- 36- Gentilini(M).  
Le paludisme: une situation critique.  
Médecine/Sciences, 1990, 5, (9), 716-717.
- 37- Gentilini(M).  
Médecine tropicale.  
Flammarion Médecine Science 1993.
- 38- Gentilini(M), Nozais(J.P).  
Histoire du paludisme.  
<< Paludisme>>, URF/ELLIPSES, Ed. Paris, 1991.
- 39- Ginsburg(H), Geary(T.G).  
Current concepts and new ideas on the mecanism of action of  
quinoleine-containing antimalarials.  
Biochemetry and pharmacology, 1987, 36, (10), 1567-1576.
- 40- Hengy(C), Eberles(F), Gasin(P), Kouka-Bemba(D), Celas(H),  
Jambou(R).  
Accès palustre simple en zone de haut niveau de résistance à la  
chloroquine.  
Bulletin de la Société de pathologie exotique, 1990, 83, 61-65.

- 41- Hengy(C), Gazin(P), Eberle(F), Jambou(R), Louis(J.P).  
 Evaluation de l'efficacité des amino-4-quinoléines en cas de chimiorésistance: proposition des nouveaux schémas thérapeutiques.  
 Médecine tropicale, 1990, 50, (1), 109-111.
- 42- Jambou(R), Abissegue(E), Gelas(H), Ghipponi(P.M), Farinetti(R), Le Bras(J), Hengy(C).  
 L'accès palustre simple en zone de haute résistance à la chloroquine.  
 I- Evaluation d'un traitement court par la quinine.  
 Bulletin de la Société de pathologie exotique, 1990, 83, 46-52.
- 43- Krogstad(D.J), Gluzman(I.Y), Kyle(D.E), Oduola(A.O), Martin(S.K), Milhous(W.K), Schlesinger(P.H).  
 Efflux of chloroquine from P. falciparum: mechanism of chloroquine resistance.  
 Sciences 1987a, 238, 1283-1285.
- 44- Krogstad(D.J), Schlesinger(P.H).  
 The basis of antimalarials action: non-weak base effects of chloroquine on acid vesicle.  
 American journal of tropical medicine and hygiene, 1987b, 36, (10), 1567-1576.
- 45- Krogstad(D.J), Schlesinger(P.H), Gluzman(I.Y).  
 Antimalarials in crease vesicle pH. in P. falciparum.  
 Journal of Cellular Biology, 1985, 101, 2302-2309.
- 46- Le Bras(J), Andréieu(B), Hatin(I), Savel(J), Coulaud(J.P).  
P. falciparum: Interprétation du semi-micro test in vitro par incorporation de 3H-hypoxanthine.  
 Pathologie et biologie, 1984, 32, (5), 463-466.
- Chimiorésistance des Plasmodium.  
 Paludisme> UREF/ELLIPSES, Ed. Paris, 1991.
- 48- Le Bras(J), Basco(L.K), Charmot(G).  
 Les bases de la chimiorésistance de P.falciparum et ses différents profils.  
 Cahiers Santé, 1993, 3, 293-301.
- 49- Le Bras(J), Coulaud(J.P), Bricaire(F), Le Bras(M), Roubert(J), Grenier(B), Fournon(M).  
 Chloroquine-resistant falciparum malaria in the Congo.  
 The Lancet, 1985, 2, 1071.
- 50- Le Bras(J), Ringwald(P).  
 Situation de la chimiorésistance du P.falciparum en Afrique en 1989.  
 Médecine tropicale, 50, (1), 11-16.

- 51- Le Bras(J), Simon(F).  
Evolution de la chimiosensibilité du paludisme en 1986. Rapport du centre de référence de la chimiosensibilité du paludisme. Bulletin épidémiologique hebdomadaire, 1987, 22, 85-88.
- 52- Louis (J.P), Hengy(C), Gazin(P), Trebucq(A), Gardon(G), Carnevale(P), Louis(F.J).  
La surveillance épidémiologique de la chimiorésistance de P.falciparum aux antimalariques au Cameroun. Cahiers Santé, 1992a, 2, 106-113.
- 53- Louis(J.P), Louis(F.J), Trebucq(A), Migliani(R), Hengy(C).  
Intérêt d'une surveillance de la chimiosensibilité de Plasmodium aux antimalariques en Afrique centrale. Bulletin de liaison et de documentation OCEAC., 1992b, (102), p.22-23.
- 54- Massiala Loumbou(J.E).  
Evaluation de la chimiorésistance de P. falciparum par la pratique des tests in vitro(application au Congo). Thèse de Médecine INSSSA 1992.
- 55- Mazier(D).  
Cycle et biologie des Plasmodium.  
<<Paludisme>> UREF/ELLIPSES, Ed. Paris 1991.
- 56- Miakassissa(P.A.C).  
Paludisme à P. falciparum et résistance aux médicaments. Situation actuelle au Congo. Thèse de Médecine INSSSA, 1986.
- 57- Moreau(S).  
La chloroquine, mécanisme d'action antimalarique et résistance. Médecine/Sciences, 1989, 5, 729-735.
- 58- OMS.  
Chimiothérapie du paludisme et résistance aux antimalariques. Série des rapports techniques, 1965, n° 13.
- 59- OMS.  
Instructions for the use of the WHO test kit for the assesment of reponse of P.falciparum to chloroquine. WHO/MAP/79, 1, 1979.
- 60- OMS.  
Pratique de la chimiothérapie du paludisme. Série des rapports techniques 1990, n° 805, p.123, 140, 142.
- 61- OMS.  
Progrès en chimiothérapie du paludisme. Série des rapports techniques , 1984, n° 711.



- 62- OMS.  
Situation du paludisme dans le monde.  
Résumé épidémiologique hebdomadaire, 1993, n° 34.
- 63- Peters(W).  
Chemotherapy and drug resistance in malaria.  
Academic Press, London 1987.
- 64- Peterson(D.S), Di Santi(S.M), Povoia(M).  
Prévalence of dihydrofolate reductase Asn-108 mutation as the basis for pyrimethamine-resistant falciparum malaria in the Brazilian Amazon.  
American journal of tropical medicine and hygiene, 1992, 52, 149-158.
- 65- Richard(A), Lallemand(M), Trape(J.F), Carnevale(P), Mouchet(J).  
Le paludisme dans la région forestière du Mayombe, République Populaire du Congo.  
II- Observations parasitologiques.  
Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale, 1988, 68, 305-316.
- 66- Rieckmann(K.H), Sax(L.J), Campbell(G.H), Mrema(J.E).  
Drug sensibility of P.falciparum, an in vitro micro technique.  
The Lancet, 1978, 1, 22-23.
- 67- Sansonetti(P), Le Bras(J), Verdier(F), Charmot(G), Dupont(B), Lapresle(C).  
Chloroquine-resistant P.falciparum in Cameroon.  
The Lancet, 1985, 1, p.905.
- 68- Simon(F), Porte(J), Veraier(F), Guigon(D), Drouville(C), Le Bras(J).  
Chimiosensibilité du paludisme dans une population d'enfants de Pointe-Noire(Congo) au 1er semestre 1986.  
Bulletin de la société de pathologie exotique 1987, 80, 417-425.
- 69- Trager(W), Jensen(J.B).  
Human malaria parasites in continuous culture.  
Science, 1976, 193, 673-675.
- 70- Trape(J.P).  
Malaria and urbanization in central Africa: the example of Brazzaville. Part IV. Parasitological and serological surveys in urban and surrounding rural areas.  
Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1987, 81, (2), 26-33.

- 71- Trape(J.P), Peelman(P) and Morault-Peelman(B).  
Criteria for diagnosing clinical malaria among a semi-immune population exposed to intense and perennial transmission. Transaction of the Royal Society of Tropical Medecine and Hygiene, 1985, 79, (4), 435-442.
- 72- Trape(J.P), Zoulani(A).  
Malarial and urbanization in central Africa: the example of Brazzaville.  
Transaction of the royal society of tropical medecine and hygiene, 1987, 81, suppl. 2. 42 pages.
- 73- Valero(M.O), Amador(L.R), Galindo(C), Figueroa(J), Bello(M.S), Murillo(L.A), Mora(A.L), Patarroyo(G), Rocha(C.L), Rojas(M), Aponte(J.J), Sarmiento(L.E), Lozada(D.M), Coronell(C.G), Ortega(N.M), Rosas(J.E), Alonso(P.L), Patarroyo(M.E).  
Vaccination with spf 66, achimically synthesised vaccine against P. falciparum in Colombia.  
The Lancet, 1993, 341, (8847), 705-710.
- 74- Verdier(F), Pussard(E), Blayo(M.C).  
Pharmacocinétique des antipaludéens: quinine et méfloquine, halofantrine, Qinghaosu, amino-4-quinoléine.  
Médecine tropicale, 1986, 46, (4), 329-342.
- 75- Wallace(P).  
Les antimalariques: situation actuelle et perspectives.  
Cahiers Santé 1993, 3, 302-307.
- 76- Warhurst(D.S).  
Antimalarial schizonticides. Why a permease is necessary?  
Parasitology today, 1986, 2, (12), 331-333.
- 77- Wellems(T.E), Panton(L.S), Gluzman(Z.Y), Do Rosario(V.E), Gwadz(R.W), Walker Jonah(A).  
Chloroquine resistance not linked to MDR-like gene in a Plasmodium falciparum cross.  
Nature 1990, 345, (6272), 253-255.
- 78- Wellems(T.E), Walker Jonah(A), Panton(L.J).  
Genetic mapping of the chloroquine resistance locus on Plasmodium chromosome 7.  
Proceeding of the national academy of science, USA, 1991, april, 15, 88, (8), 3382-3386.
- 79- Zolg(J.W), Plitt(J.R), Chen(C.X).  
Point mutations in the dihydrofolate reductase gene as molecular basis for pyrimethamine resistance in P. falciparum.  
Molecular biochemical parasitology, 1989, 36, (3), 253-262.

## ANNEXES.

Annexes 1: confection de la goutte épaisse et du frottis mince.

Elle se fait en prélevant le sang périphérique par piqûre au niveau de la pulpe du doigt ou lors d'un prélèvement veineux en tube. Le sang prélevé sera déposé sur une lame dégraissée au préalable (de préférence par le mélange alcool-éther).

## a) La technique de la goutte épaisse.

A l'aide de la pointe d'un vaccinostyl ou du coin d'une seconde lame, on procède immédiatement à un mouvement en spirale sur la goutte de sang. Ce mouvement en spirale a le double intérêt d'étaler et de défibriner le sang. Puis on laisse sécher la lame soit quelques minutes dans l'étuve à 37 degrés Celsius, soit 24 heures à la température ambiante en prenant soin de la placer à l'abri de la poussière. Ce séchage a pour but d'éviter le décollement de la goutte lors de la coloration faite avec le Giemsa sans fixation préalable au méthanol. Enfin, on rince les lames et on les laisse sécher.

## b) La technique du frottis mince.

A l'aide d'une seconde lame placée en contact de la goutte de sang capillarisé le long des zones de contact des 2 lames (laquelle diffuse), on procède à un étalement en couche mince du sang qui doit être immédiatement séché par agitation à la main dans le but d'éviter une déformation des hématies; puis on réalise la coloration du frottis qui se fait toujours après une fixation au méthanol. La coloration peut être faite avec du RAL 155 ou du Giemsa ordinaire. Enfin, on les sèche.

**Annexe 2: Fiche technique sur la méthode in vitro utilisée lors de notre enquête.**

La présente enquête a utilisée pour le test in vitro, la méthode du micro test Desjardins modifié (Pitié Salpêtrière). Cette fiche donne une description détaillée du mode opératoire dudit test in vitro.

**1- Mode opératoire.**

**1-1- Prépartifs précédant l'arrivée des isolats:** l'arrivée des isolats au Laboratoire est précédée d'opérations nécessaires pour la mise en culture des souches de Plasmodium falciparum; ce sont notamment:

- 1- la reconstitution du milieu de culture;
- 2- la préparation des solutions de conservation des drogues;
- 3- la dilution des drogues;
- 4- la préparation et le lavage des globules rouges non parasités (GRN).

**1-1-1- Reconstitution du milieu de culture.**

**a)- Préparation du RPMI simple (RPMI= Rosewell Park Memorial Institute).**

- Composition et quantité de matière première nécessaire à la préparation d'un litre du RPMI simple:

RPMI poudre avec glutamine sans antibiotique et sans NaHCO<sub>3</sub>: 10,4g;  
 HEPES en poudre.....: 8,31 g;  
 Bicarbonate de sodium(NaHCO<sub>3</sub>).....: 2,1 g;  
 Gentamicine.....: 1 ml;  
 Hypoxanthine poudre.....: 50 mg;

Eau distillée .....: 1 litre.

b)- Exécution de la préparation:

Introduire un bécher propre appretté à cet effet, les 3 premiers composés précités, puis ajouter de l'eau bidistillée sans atteindre le volume total désiré (dans le cas présent 1 litre). Un ajustement de volume sera fait plus tard. Ajouter l'Hypoxanthine. Pour des raisons d'ordre pratique liées à la nature volatile du RPMI, fermer l'ouverture du bécher avec du papier aluminium afin d'éviter les pertes, puis mettre le mélange sous agitation magnétique pendant 15 minutes. Après l'agitation, transvaser le mélange dans une burette propre graduée, ajuster le volume avec de l'eau bidistillée, puis ajouter la gentamicine dans des conditions d'aseptie. Filtrer avec une seringue munie d'un filtre stérile de 0,22 µm lors de la répartition dans les tubes et flacons stériles. La conservation doit être faite à 0 - 20 degré au moins, les tubes placées en position verticale.

c)- Préparation du milieu RPMI Serum 10 %:

Faire une décongélation au bain marie de deux flacons de 200 ml de RPMI et du serum humain. Ces 2 produits ne se conservent qu'une semaine à 4 degrés Celsius une fois décongelés. Soustraire 20 ml dans chacun des flacons de RPMI, ajouter au 180 ml restant dans les flacons, 20 ml de serum humain et faire le mélange à l'aide d'une pipette. On obtient ainsi un milieu RPMI Serum 10 % (RPMIS) qui peut être conservé à la température de + 4 degrés Celsius pendant au plus 3 jours.

1-1-2- Préparation des solutions de conservation des drogues: elle doit être faite le premier jour de la mission et chaque début de semaine.

a)- Pour la chloroquine:

Introduire dans une éprouvette 15 mg de chloroquine poudre, soit l'équivalent de 24,14 mg de chloroquine base. Y ajouter 3 ml d'éthanol à 70 %. On obtient ainsi 3 ml de sulfate de chloroquine à 5 mg/ml (ou 5 ug/ul) d'éthanol qui devra être conservé stérile à la température de - 20 degrés Celsius.

b)- Pour la quinine, la méfloquine:

Le mode opératoire reste le même ainsi que les quantités d'éthanol à 70 % et drogues en poudre dont les équivalents en base sont: 16,44 mg pour la méfloquine.

1-1-3- la dilution des drogues aux différentes concentrations.

Cette opération nécessite pour sa réalisation l'utilisation d'un tube à hémolyse et de 9 tubes à fond conique autoportants de 30 ml "stérilins", par drogue.

a)- Cas de la chloroquine:

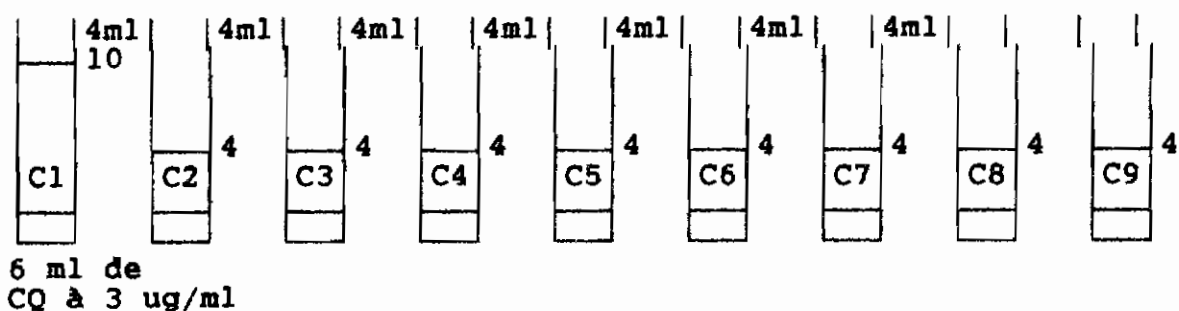
Etiquetter les 9 stérilins de C1 à C9.

Mettre dans chacun des stérilins C2 à C9 4 ml du milieu RPMIS; puis mettre 9 ml de milieu RPMIS dans le stérilin C1. Dans le tube à hémolyse, mettre 235 ml de RPMIS, ajouter 15 ul de la solution de conservation de la chloroquine, homogénéiser; puis soustraire 1 ml de la solution obtenue, le mettre dans C1. On obtient ainsi 10 ml de sulfate de chloroquine à 3 ug/ml de RPMI Serum.

Faire sur les stérilins C2 à C9 une dilution en série de raison

2 à partir de C1 (Figure 12).

Figure 12



On obtient ainsi pour chaque stérilin les concentrations indiquées dans le tableau XVIII ci-après:

Stérilins	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
Concentration de chloroquine en microgramme/millilitre	3	1,5	0,75	0,37	0,185	0,092	0,046	0,023	0,011

Tableau XVIII

b)- Cas de la quinine:

Etiqueter les 9 stérilins de Q1 à Q9. Mettre dans chaque stérilin de Q2 à Q9 4 ml du milieu RPMIS et dans le stérilin Q1, 8 ml de RPMI 3.

Dans le tube à hémolyse, mettre 2,5 ml de RPMIS, ajouter 15 ul de la solution de concentration de la quinine, homogénéiser; puis soustraire 2 ml de la solution obtenue, les mettre dans Q1. On obtient ainsi 10 ml de quinine à 6 ug/ml.

Faire sur les stérilins Q2 à Q9, une dilution en série de raison 2 à partir de Q1. On obtient ainsi pour chacun des stérilins les concentrations indiquées dans le tableau XIX ci-après:

Stérilins	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9
concentration de quinine en microgramme/ millilitre	6	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234

Tableau XIX

c)- Cas de la méfloquine:

Etiquetter les 9 stérilins de M1 à M9. Introduire dans chaque stérilin de M2 à M9 4 ml de RPMIS et dans M1, 9,5 ml de RPMIS.

Mettre dans le tube à hémolyse 5 ml de RPMI sérum, ajouter 15 ul de la solution de conservation de la méfloquine, homogénéiser; puis retirer 0,5 ml de la solution obtenue, la mettre dans M1. On obtient ainsi 10 ml de méfloquine à 0,75 ug par ul.

Procéder sur les stérilins M2 à M9 à une série de dilution de raison 2 à partir de M1. On obtient ainsi pour chacun des stérilins les concentrations indiquées dans le tableau XX ci-après:

Stérilins	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
concentration mé- floquine en micro- gramme/millilitre	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0,0117	0,0059	0,0029

Tableau XX



1-1-4- Préparation et lavage des globules rouges non parasités (GRN).

- Prélever le sang chez un sujet non contaminé et non pourvu d'immunité palustre en provenance d'une zone non endémique. Le donneur doit appartenir au groupe sanguin O positif ou négatif. La conservation du sang s'effectue à 4 degrés C. pendant une durée maximum de 3 semaines.

Chaque début de la semaine: transvaser 25 ml de sang dans un stérilin de 30 ml; puis centrifuger à 2000 tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant ainsi que les globules blancs sont rejetés.

Au minimum deux centrifugations successives de 10 minutes chacune à 2000 tours/minute sont faites sur le culot additionné du RPMI et chaque fois le surnageant est enlevé. Après la dernière soustraction du surnageant, ajuster l'hématocrite à 50 % en ajoutant un volume égal de RPMIS au culot. Les GRN ainsi traités peuvent être conservés au maximum une semaine à la température de 4 degrés Celsius.

1-2- Opérations consécutives à l'arrivée des isolats.

A l'arrivée des isolats, confectionner immédiatement des frottis sanguins afin de confirmer la parasitémie initiale. Par la suite peut démarrer la chaîne des opérations.

1-2-1- Lavage des globules rouges parasités (GRP).

Agiter délicatement les tubes contenant les isolats dans le but de les remettre en suspension; centrifuger une première fois les isolats pendant 5 minutes à 1800 tours/minute.

Après la centrifugation retirer à la pipette Pasteur le sérum surnageant qui doit être gardé pour la sérothèque et la couche leucoplaquettaire formant une pellicule blanchâtre qui doit par contre être jetée. Seul reste dans le tube le culot globulaire. Centrifuger 3 fois de suite ce culot globulaire additionné de 3 volumes de RPMI pendant 10 minutes à 2000 tours/minute. Chaque fois le surnageant est jeté. Après la dernière soustraction du surnageant, ajouter un volume égal de RPMIS au culot afin de ramener l'hématocrite à 50 %. Faire un frottis sanguin pour une lecture ultérieure.

#### 1-2-2- Préparation de la solution mère d'hypoxanthine (\*H3).

La préparation de la solution mère d'hypoxanthine est faite à partir de l'hypoxanthine à 50 mCie/ml dont la conservation a été faite en tubes à congélation de 1 ml à une température de 20 degrés Celsius. Cette préparation nécessite pour son exécution l'utilisation des tubes à hémolyse si le nombre d'isolats est de 1 ou 2 et de stérilin si le nombre d'isolat est compris entre 3 et 20 compris. La préparation consiste à mettre en solution l'hypoxanthine à 0,5 mCie/ml dans du RPMIS (44,66 ul d'H3 pour 1 ml de RPMIS).

Le tableau XXI ci-après donne les quantités nécessaires de H3 et les quantités de RPMIS correspondants en fonction du nombre d'isolats.

Nbre d'isolat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Quantité de RPMIS en ml	17,5	3,6	5,4	7,2	9	10,8	12,6	14,4	16,2	18	19,8	21,6	23,4	25,2	27	28,8	30,6	32,4	34,2	3
Quantité d'hypoxanthine en µl	75	150	225	300	375	450	525	600	675	750	825	900	975	1050	1125	1200	1275	1350	1425	15

Tableau XXI

1-2-3- Préparation des solutions d'hypoxanthine (H3) destinées à chaque isolat et aux GRN.

Disposer d'autant de stérilins que d'isolats à tester auxquels on attribue un numéro et d'un stérilin pour les GRN. Mettre dans chacun des stérilins pour isolat 17,5 ml de RPMI serum et 2 ml de solution mère d'hypoxanthine tandis que dans le stérilin destiné aux GRN, la quantité de solution H3 et de RPMI sérum à mettre dépend du nombre comme indiqué dans le tableau XXII ci-après:

Nbre d'isolats	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Nbre réel de puits	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72	78	84	90	96	102	108	114	120
Calculs pour X puits	8	16	20	28	36	40	48	52	56	64	68	76	80	88	92	100	104	112	116	124
RPMIs en ml	1,4	2,8	3,5	4,9	6,3	7,0	8,4	9,1	9,8	11,2	11,9	13,3	14,0	15,4	16,1	17,5	18,2	19,6	20,3	21,7
Solution d'H3 en µl	160	320	400	560	720	800	960	1040	1120	1280	1360	1520	1600	1760	1840	2000	2080	2240	2320	2480

Tableau XXII

## 1-2-4- Ajustement éventuel de la parasitémie.

En cas de forte parasitémie, un ajustement de celle-ci doit être fait pour l'obtention d'une parasitémie finale comprise entre 0,3 et 0,5 %. Cet ajustement consiste à une dilution des GRN à 50 % d'hématocrite. Un calcul de la dilution nécessaire pour obtenir 1 millilitre de mélange GRP et GRN à 0,3 - 0,5 % est rapporté dans le tableau XXIII ci-après:

PARASITEMIE en %	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0,9	0,8	0,7
VOLUME DE GRN en ul	950	950	950	940	930	900	900	860	800	500	500	500	300
VOLUME DE GRP en ul	50	50	50	60	70	100	100	140	200	500	500	500	600
PARASITEMIE FINALE en %	0,5	0,49	0,4	0,42	0,42	0,5	0,4	0,42	0,4	0,5	0,45	0,4	0,42

Tableau XXIII

Après l'ajustement, faire un frottis de contrôle à lire ultérieurement.

## 1-2-5- Préparation des solutions définitives.

Dans chaque stérilin contenant la solution RPMI R-H3\*, ajouter 900 ul de GRP à la parasitémie. Dans le stérilin destiné aux GRN, ajouter le volume de GRN correspondant au nombre d'isolats comme indiqué dans le tableau XXIV ci-après:

Nbre l'isolat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Vol. GRN en ul	72	144	180	252	324	360	432	468	504	576	612	684	720	792	828	900	936	1008	1044	1116

Tableau XXIV

\* Distribution des drogues dans les plaques.

La distribution des drogues dans les plaques nécessite l'utilisation d'une seringue stérile par drogue. Ces seringues doivent être chargées sur une multipipette ependorf mise en position 1 correspondant à 50 ul.

On procède dans un premier temps au dépôt de 50 ul de RPMIS sans drogue dans chaque puit des 12<sup>ème</sup>, 11<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup> colonnes de toutes les plaques. Dans un deuxième temps on réalise une distribution de 50 ul de chloroquine aux différentes concentrations dans chaque colonne restante en commençant par la plus faible concentration sur (la colonne 9 correspondant au stérilin C9) pour terminer par la plus élevée (la colonne 1).

La même opération est reprise dans les plaques de quinine, méfloquine et halofantrine en utilisant une nouvelle seringue pour chaque drogue.

\* Distribution des solutions de GRN.

Elle est faite avec une seringue stérile chargée sur la multipipette ependorf en position 4 qui correspond à 200 ul. Cette distribution concerne uniquement les 12<sup>ème</sup> colonnes de chaque plaque.

\* Distribution des solutions de GRP.

Elle est faite avec une seringue stérile par souche chargée sur l'ependorf en position 4 (200 ul). Cette distribution concerne les 11 premières colonnes à raison de 2 rangées par souche pour chacune des drogues.

\* Enfin, les plaques sont introduites dans une cloche avec une bougie allumée, puis la cloche est mise à l'étuve 48 heures à 37 degrés Celsius. A la 48 ème heure, les plaques sont sorties de l'étuve et un frottis sanguin de contrôle est réalisé avec le contenu des puits témoins. Les plaques congelées à moins 20 degrés en attendant leur lecture au compteur à rayonnement beta (colonnes 10 et 11).

### ANNEXE III

#### ASPECT SCHEMATIQUE DES PLASMODIES HUMAINES

##### 1. Mérozoïte pénétrant une hématie

*Plasmodium vivax* parasite des hématies hypertrophiées.  
contenant de nombreuses granulations de Schüffner

- 2. Trophozoïte annulaire jeune
- 6. Trophozoïte annulaire âgé
- 10 Schizonte amiboïde
- 14. Rosace, dont les nombreux noyaux (16 à 24) et le pigment sont irrégulièrement disposés
- 18. Gamétocyte sphérique (il s'agit sur la figure d'un gamétocyte femelle, le gamétocyte mâle ayant un cytoplasme lilas)

*Plasmodium falciparum* parasite des hématies de taille normale.  
contenant parfois quelques tâches de Maurer

- 3. Trophozoïde annulaire jeune, à deux masses nucléaires
- 7. Deux trophozoïdes annulaires dans la même hématie : polyparasitisme fréquent dans cette espèce plasmodiale
- 17. Deux trophozoïdes annulaires présentant deux masses nucléaires réunies par un pont chromatinien en "bracelet arabe"
- 15. Schizonte jeune
- 19. Gamétocyte en "faux", en "banane" ou en "cigare"

N.B.: dans le sang périphérique, on ne trouve ni schizonte âgé, ni rosace

*Plasmodium malariae* parasite des hématies rétractées,  
dépourvues de granulations

- 4. Trophozoïde annulaire jeune, précocement pigmenté
- 8. Trophozoïde annulaire âgé
- 12. Schizonte quadrilatère, disposé en "bande équatoriale"
- 16. Rosace dont les noyaux, peu nombreux (6 à 8), sont régulièrement disposés : "corps en marguerite"
- 20. Gamétocyte sphérique

*Plasmodium ovale* parasite des hématies hypertrophiées,  
ovales et fragiles, contenant de très nombreuses granulations de Schüffner

- 5. Trophozoïde annulaire
- 9. Deux trophozoïdes dans la même hématie : polyparasitisme peu fréquent
- 13. Schizonte ne présentant jamais l'aspect franchement amiboïde de *P. vivax*
- 17. Rosace irrégulière
- 21. Gamétocyte sphérique

NOM : ONDIMA

PRENOM : AIME GUY WILLIAM

TITRE DE LA THESE : ETUDE DE LA CHIMIOSENSIBILITE in vivo et in vitro de P. falciparum AUX ANTIMALARIQUES  
DANS UNE ECOLE PRIMAIRE DE BRAZZAVILLE ( CONGO )

ANNEE : 1993-1994

VILLE DE SOUTENANCE : BAMAKO

PAYS D'ORIGINE : CONGO

LIEU DE DEPOT : BIBLIOTHEQUE DE L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE  
ET DE PHARMACIE

SECTEUR D'INTERET : PARASITOLOGIE

RESUME :

La confirmation, en 1985 de l'existence au Congo d'une chimioresistance de P. falciparum aux antimalariques, a motivé la mise en place d'un programme de surveillance in vitro de cette chimioresistance. Ce programme de surveillance qui a débuté en 1987, prévoit une enquête chaque 3 ans. C'est ce qui explique l'exécution en février 1993, d'une enquête menée chez des enfants asymptomatiques des classes de CP1 d'une école primaire de Brazzaville. Les antimalariques étudiés lors de cette enquête sont la chloroquine, quinine, mefloquine et halofantrine.

Ce travail, qui porte sur l'étude de la baisse de chimiosensibilité de P. falciparum aux antimalariques, présente à partir des résultats de l'enquête ci-dessus mentionnée :

- la situation en 1993 au Congo de la chimioresistance in vitro de P. falciparum aux 4 antimalariques étudiés et celle de la chloroquine in vivo suivant le protocole de l'OMS (25mg/kg).
- une analyse de l'évolution de cette chimioresistance durant les 6 années passées de ce programme de surveillances.

MOTS CLES : Chimioresistance (chimiosensibilité), In vivo, Invitro, Asymptomatiques, P. falciparum, Antimalariques.



## SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre de pharmaciens et de mes condisciples: D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement:

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 l'honneur, de la probité et du désintéressement:

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

