

MINISTERE DE L'EDUCATION
NATIONALE

ECOLE NATIONALE
DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DU MALI

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

ANNEE 1990

N°*44*.....

**Evolution de la Chimiosensibilité des Souches Maliennes
de Plasmodium Falciparum aux Amino - 4- Quinoléines
de 1985 à 1991**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 1991 devant
l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

PAR

Mr Faoussouby CAMARA

Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine

(DIPLOME D'ÉTAT)

Examineurs :

Président: Professeur Boubacar Cissé

Assesseurs: Docteur Abderhamane Sidéye MAIGA
Docteur Hamar Alassane TRAORE

Directeur de Thèse Docteur Ogobora DOUMBO

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1990-1991

LISTE DES PROFESSEURS

Professeur Issa TRAORE	Directeur Général
Professeur Boubacar CISSE	Directeur Général Adjoint
Docteur Hubert BALIQUE	Conseiller Technique
Professeur Bakary CISSE	Sécrétaire Général

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Mamadou Lamine TRAORE	Chirurgie Générale
Professeur Aliou BA	Ophthalmologie
Professeur Bocar SALL	Ortho. Traumat. Secourisme
Professeur Abdel K. KOUMARE	Chirurgie Générale Chef D.E.R
Professeur Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Professeur Abdou A. TOURE	Ortho. Traumatologie
Professeur Amadou DOLO	Gynéco- Obstétrique

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Madame SY aïda SOW	Gynéco- Obstétrique
Docteur Kalilou OUATTARA	Urologie
Docteur Mamadou L. DIMBANA	Odonto-Stomatologie
Docteur Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Docteur Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Docteur Alhousséini Ag MOHAMED	O.R.L.
Docteur Mme DIANE F. S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Anesth. Réanimation
Docteur Sidy Yaya TOURE	Anesth. Réanimation
Docteur Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1- PROFESSEURS AGREGES

Professeur Bréhima KOUMARE	Microbiologie
Professeur Siné BAYO	Anatomie Pathologique
Professeur Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique

2-DOCTEURS D'ETAT

Professeur Yaya T.TOURE	Biologie
Professeur Amadou DIALLO	Biologie Génétique Chef D.E.R

3-DOCTEURS 3è CYCLE

Professeur Moussa HARAMA	Chimie Organique
Professeur Massa SANOGO	Chimie Analytique
Professeur Mme THIAM Aïssata SOW	Biophysique
Professeur Bakary M. CISSE	Biochimie
Professeur Mamadou KONE	Physiologie

4-ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Ogobara DOUMBO	Parasitologie
Docteur Abdérhamane S. MAIGA	Parasitologie
Docteur Anatole TOUNKARA	Immunologie
Docteur Amadou TOURE	Histo-Embryologie

5-MAITRES ASSISTANTS

Docteur Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
------------------------------	-----------

D.E.R DE MEDECINE ET SPÉCIALITES MEDICALES

1-PRPFESSEURS AGREGES

Professeur Souleymane SANGARE	Pneumo-Phtisio
Professeur Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne Chef D.E.R
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Professeur Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Professeur Mahamane MAIGA	Néphrologie
Professeur Ali N. DIALLO	Médecine Interne
Professeur Baba KOUMARE	Psychiatrie
Professeur Moussa TRAORE	Neurologie
Professeur Issa TRAORE	Radiologie
Professeur Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Professeur Eric PICHARD	Médecine Interne
Professeur Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2- ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Balla COULIBALY	Pédiatrie
Docteur Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur Dapa Ali DIALLO	Hémato-Médecine Interne
Docteur Somita KEITA	Dermato-Léprologie

D.E.R. DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1- PROFESSEURS AGREGES

Professeur Boubacar CISSE	Toxicologie
---------------------------	-------------

2-MAITRES ASSISTANTS

Docteur Boulkasoum HAIDARA	Législ. Gést. Pharm.
Docteur Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur Arouna KEITA	Matières Médicales
Docteur DOUMBIA	Chef de D.E.R.

3-DOCTEURS 3è CYCLE

Docteur Mme CISSE Aminata GAKOU	Pharmacie Galénique
---------------------------------	---------------------

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1- PROFESSEURS AGREGES

Professeur Sidi Yaya SIMAGA Santé publique Chef D.E.R
Docteur Hubert BALIQUE Maitre de conf. santé Pub.

2- ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Moussa A. MAIGA Santé publique
Docteur Georges SOULA Santé publique
Docteur Pascal FABRE Santé publique
Docteur Bocar G. TOURE Santé publique

CHARGES DE COURS

Professeur N'Golo DIARRA Botanique
Professeur Boubou DIARRA Bactériologie
Professeur Souleymane TRAORE Physiologie Générale
Professeur Salikou SANOGO Physique
Professeur Daouda DIALLO Chimie Générale et Min.
Professeur Messaoud LAHBIB Biologie
Professeur Bakary I. SACKO Biochimie
Professeur Yoro DIAKITE Maths
Professeur Sidiki DIABATE Bibliographie
Docteur Aliou KEITA Galénique
Docteur Boubacar KANTE Galénique
Docteur Souleymane GUINDO Gestion
Docteur Mrs Sira DEMBELE Maths.
Monsieur Modibo DIARRA Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA Hygiène du milieu

ASSISTANTS

Docteur Bah KEITA Pneumo-Phtisiologie
Docteur Hamar A. TRAORE Médecine Interne
Docteur Sékou SIDIBE Ortho-Traumatologie
Docteur Adoul K. TRAORE dit DIOP Chirurgie Générale
Docteur Flabou BOUGOUDOOGO Microbiologie
Docteur Moussa Y. MAIGA Gastro-Entérologie
Docteur Abdoul K. TRAORE Médecine Interne
Docteur Drissa DIALLO Matières Médicales
Docteur Nouhoum ONGOIBA Chirurgie Générale
Docteur Sahari FONGORO Néphrologie
Docteur Bakoroba COULIBALY Psychiatrie
Docteur Benoît KOUMARE Chimie Analytique

C. E. S.

Docteur Mamadou A. CISSE Urologie
Docteur Filifing SISSOKO Chirurgie Générale
Docteur Daba SOGODOGO Chirurgie Générale
Docteur Georges YAYA Ophtalmologie
Docteur Mahamane S. ASKIA Ophtalmologie
Docteur Amadou Ndene DIALLO Ophtalmologie

Docteur Abdou ISSA	Ophtalmologie
Docteur NDJIKAM	Ophtalmologie
Docteur DEZOMBE	Ophtalmologie
Docteur Oumar BORE	Ophtalmologie
Docteur Aboubacrine A. MAIGA	Santé Publique
Docteur Dababou SIMPARA	Chirurgie
Docteur Mahamane TRAORE	Chirurgie
Docteur Mohamed Ag BENDECH	Santé Publique
Docteur Mamadou MAIGA	Dermatologie

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Philippe VERIN	C.E.S. Ophtalmologie
Professeur E.A. YAPO (AUPELF)	Biochimie
Professeur Babacar FAYE (AUPELF)	Pharmacodynamie
Professeur FOURASTE	Pharmacie Chimique
Professeur Léopold TCHAKPE	Galénique

PERSONNELS RESSOURCES

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Badi KEITA	H.P.G.
Docteur Antoine NIANTAO	H.G.T.
Docteur Kassim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompéré KONE	I.N.R.S.P.
Docteur Adama S. SANOGO	I.N.R.S.P.
Docteur BA Marie P. DIALLO	I.N.R.S.P.
Docteur ALmahdy DICKO	P.M.I. Sogoninko
Docteur Mohamed TRAORE	Kati
Docteur Arkia DIALLO	P.M.I. Centrale
Docteur REZNIKOFF	I.O.T.A.
Docteur TRAORE J. THOMAS	I.O.T.A.
Docteur Pierre BOVIN	Marchoux
Docteur Alain DELAYE	H.P.G.

DEDICACES

Je dédie ce travail :

- A la mémoire de mes grand-parents

- A la mémoire de mon père:

Tu as su me guider dans la^{vie} et me transmettre l'éducation noble que tu as reçu de tes parents .

Puisse le Bon Dieu accorder le salut à ton âme.

- A ma mère :

Que ce travail soit un faible témoignage de la profonde affection que je te voue, et de ma gratitude pour tout ce que je te dois. Puisse Allah te garder encore longtemps parmi nous.

- A mes frères et soeurs :

En témoignage de la grande affection qui nous lie. Merci pour ces attentions que vous manifestez à mon égard.

Puisse ce travail vous servir d'emple.

"Le travail d'adord, la chance ensuite."

- A mon oncle Demba CAMARA, à sa femme et à ses enfants:

Soyez assurés de mon profond respect et de mon engagement vis à vis de vous.

- A mon oncle Moussa CAMARA :

En témoignage de mon amour infini, je t'offre ce modeste travail; puisse-t-il t'apporter le reconfort pour tant de soucis pour moi.

- A toutes mes cousines et tous mes cousins:

Avec toute mon affection.

- A Mademoiselle Fanta DRAME:

Avec toute mon affection et toute ma tendresse.

- A tous mes amis et à toutes mes amies:

Je m'abstiens de citer les noms par crainte d'en oublier.

Trouvez ici un témoignage de mon attachement profond pour une amitié sincère et durable.

" Heureux celui avait pu seulement rencontrer l'ombre d'un ami" (MONTAIGNE).

- A tous mes camarades de promotion:

Pour les moments de dure labeur passés ensemble.

La réussite est au bout de l'effort consenti, bon courage.

- A mes cadets du D.E.A.P.

Madame KEITA Fanta TRAORE

Bouréma KOURIBA

" La chance ne nous couronne que lorsque nous lui avons bâti son trône par un travail assidu".

Je vous souhaite bon courage.

Enfin, je dédie cette thèse à tous ceux qui, de par le monde, meurent de faim, de maladies ou qui souffrent d'injustice, et à tous ceux qui luttent contre ces fléaux pour la paix et le progrès de l'humanité.

REMERCIEMENTS

Qu'il me soit permis d'adresser mes sincères remerciements:

- A l'aide-soignant du poste médical de Safo,
- A toute la communauté villageoise,
- Au Directeur, ses collègues enseignants et l'ensemble des élèves de l'école rurale de Safo

Pour leur étroite collaboration à l'exécution de ce travail.

- A tout le personnel du D.E.A.P., de toutes sections confondues. Vous m'excuserez de n'avoir pas cité vos^{noms} par crainte du préjudice d'en oublier.

Je reste particulièrement impressionné par votre grande disponibilité à servir et votre gentillesse à mon égard tant sur le terrain qu'au laboratoire.

Veuillez recevoir mes sincères remerciements.

- A tout le personnel de la Médecine Interne en général, de la Médecine B en particulier. Votre franche collaboration et votre enthousiasme au travail m'ont particulièrement marqué pendant mon séjour dans votre service.

Trouvez ici un faible témoignage de mon profond respect.

- Au Docteur Mamadou DEMBELE
- AU Docteur Hamar Alassane TRAORE
- Au Professeur Eric PICHARD
- Au Professeur Ali Nouhoum DIALLO

Chers maîtres, mon séjour dans votre service de Médecine Interne constitue un de mes meilleurs souvenirs. Vous m'avez fait participer à la vie du service et vous m'avez donné une si belle image de la Médecine Interne.

- A tous mes camarades internes de la Médecine Interne

- . Madame DIALLO Fanta SIBY
- . Abdoulaye TOURE
- . Idrissa CISSE
- . Ousmane DOUCOURE
- . Modibo DAFÉ
- . Mahamane MAIGA
- . Madame TOURE Aïssata Sarmoye HAIDARA
- . Boukassim DICKO
- . Fatoumata TOURE

Merci de votre bonne compréhension.

- Aux familles:

- . Fayéra SISSOKO à Hamdallaye,
 - . Moussa SISSOKO à N'Tomikorobougou
 - . DRABO au Point G
 - . Natogoma TRAORE au Badialan I
- Pour leur hospitalité

- A Monsieur Kalilou SISSOKO pour l'attention qu'il ne cesse de manifester à mon égard et pour sa générosité.

- A amis promotionnaires, compagnons de tous les jours:

- . Koly N. SISSOKO
- . Mamadou BATHILY
- . Madame BERTHE Safiatou SANGARE
- . Kadiatou Madani TALL
- . Oumar Mariam TRAORE
- . Madame DAO Fatoumata Binta TRAORE
- . Salia COULIBALY

Grâce à votre esprit de solidarité nous avons pu surmonter les obstacles rencontrés au cours de nos études.

Soyez assurés de toute ma reconnaissance et mon profond attachement pour une amitié sincère.

- A mes amis et frères:

. Ibrahima TOURE

. Mady MAKANERA

. Karamady KANTE

Avec toute mon amitié et fraternité.

- Au Docteur Ousmane KOITA:

Que vous dire après tout ce que vous avez fait pour la réalisation de ce travail? Je voudrais tout simplement vous renouveler tout le respect et l'admiration que j'ai pour votre personne.

Soyez assuré de la sincérité de ~~la~~ mes sentiments.

A tous ceux qui m'ont apporté leur soutien au cours de mes études.

Avec toute ma reconnaissance.

- A notre Maître Directeur de Thèse

Docteur Ogobara DOUMBO

Assistant chef de clinique

Médecin chef du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires
à l'Ecole Nationale de Médecine et Pharmacie du Mali(ENMP)

Directeur du Cours Supérieur d'Epidémiologie

Professeur de Parasitologie à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie
du Mali

Monsieur, j'ai pu grâce à vous m'attacher à ce sujet passionnant et d'actualité. Votre patience et votre gentillesse à mon égard m'ont permis d'avancer dans ce travail et vos documents m'ont été d'une aide précieuse.

Votre souci du travail bien accompli et le sens du devoir font de vous un modèle au sein de notre établissement. Malgré vos nombreuses préoccupations vous avez su nous prodiguer de sages conseils.

Nous vous adressons nos remerciements les plus sincères et notre grande admiration.

- A notre maître, Président du Jury:

Professeur Boubacar Cisse

Premier Assesseur de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

Chef de service de la section Toxicologie de l'INRSP

Professeur chargé des cours de Toxicologie à l'Ecole Nationale de Médecine et
Pharmacie du Mali (ENMP)

Nous sommes très honoré par votre présence dans notre jury. Vos éminentes qualités professionnelles et humaines sont connues de tous.

Veuillez donc accepter, l'expression de notre profonde gratitude.

- A notre maître et membre du jury

Docteur Abdérhamane Sideye MAIGA

Professeur de Parasitologie à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmaci
du Mali (ENMP)

Chef du service de la section Parasitologie à l'INRSP

Monsieur, les documents que vous nous avez fournis nous ont été d'un grand
secours, et la présence d'un éminent Paludologue à notre jury de thèse, est pour
nous un grand honneur.

- A notre maître et juge:

Docteur Hamar Alassane TRAORE

Assistant chef de clinique en Médecine Interne

Nous avons pu bénéficier avec plaisir de votre expérience pratique. Nous avons enfin
compris vos critiques constructives, votre souci de formateur.

Vous nous faites maintenant l'honneur de siéger dans notre jury.

C'est enfin pour nous l'occasion de vous exprimer notre reconnaissance et
notre admiration.

SOMMAIRE

	Pages
1-Introduction	1
2-Objectifs	4
3-Rappel sur le cycle biologique des plasmodium	5
4- Rappel sur les antipaludéens:	8
4-1 Médicaments schizontocides:	8
4-2 Médicaments gamétocytocides:	14
4-3 Médicaments nouveaux:	15
5- La chimiosensibilité de <i>P. falciparum</i> aux amino-4 quinoleines	19
5-1 Historique:	19
5-2 Mécanismes de la résistance de <i>P. falciparum</i> aux amino-4 quinoleines	23
5-3 Cas de fausses résistances:	27
5-4 Techniques d'évaluation de la chimiosensibilité des plasmodium	27
6- Evolution de la chimiosensibilité de <i>P. falciparum</i> au Mali de 1985 à 1990	47
7- Le Travail de terrain	53
7-1 Lieu d'étude	53
7-2 Méthodologie	57
7-2-1 Période d'étude	57
7-2-2 Matériels	58
7-2-3 Echantillonnage	59
7-2-4 Personnel	59
7-2-5 Techniques de recherche	60

8- Nos Resultats	65
8-1 Resultats entomologiques:	65
8-2 Resultats du test de DILL et GLAZKO	66
8-3 Resultats parasitologiques (test in vivo)	67
8-3-1 Resultats globaux	67
8-3-2 Resultats descriptifs et analytiques	68
9- Commentaires- Discussion	74
10- Conclusion-Récommandations	78

Resumé

Bibliographie

1- INTRODUCTION

Le paludisme à *Plasmodium falciparum* est une érythrocytopathie hémolysante et fébrile, due au développement et à la multiplication d'abord dans les hépatocytes puis dans les hématies de quatre espèces d'hématozoaires appartenant toutes au genre plasmodium. Son origine controversée se perd dans la nuit des temps. Atravers les âges le paludisme a été présent dans de vastes régions tropicales et tempérées du monde. En effet cette maladie est mentionnée dans les premiers écrits de l'Egypte, de l'Inde et de la Chine. Les symptômes cliniques du paludisme ont déjà été décrits en Grèce par Hippocrate 400 ans avant l'ère chrétienne.

Le mot **paludisme** dérive du latin: "Palus" (marais), et le mot **malaria** de l'italien: "mala aria" (mauvais air).

Cette parasitose constitue toujours une redoutable endémie tropicale et pose un problème de santé publique dans nos pays. En effet près de 2 milliards de personnes (34% de la population mondiale) vivent dans des zones où le paludisme endémique sévit ou réapparaît (Asie du Sud et du Sud-Est, Amérique latine Afrique tropicale). Plus d'un million de cas ont été enregistrés en 1987 (34). En réalité les estimations raisonnables évaluent à plus de 100 millions de cas de paludisme par an dans le monde.

En Afrique, le paludisme serait responsable de 1 à 2 millions de décès par an. La mortalité et la morbidité directement attribuable au paludisme sont une contrainte majeure au progrès sanitaire et économique dans nos pays.

Au Mali, le paludisme sévit presque dans tout le territoire et on y rencontre toutes les 4 espèces de Plasmodium impliquées dans la transmission du paludisme humain. Le paludisme est responsable de 12,8% des syndromes fébriles dans les services de médecine interne de l'hôpital du point "G" (41). Cette hémosporeidiose est la cause de 49,07% des convulsions fébriles chez les enfants de 1 mois à 14 ans dans les services de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré (23).

En zone rurale l'indice plasmodique varie de 60% à Safo à 75,1% à Kambila pendant la saison de pluies (53,18).

La mise au point du vaccin antipaludique, fondée sur la possibilité d'utiliser des antigènes purifiés stimulant des réponses immunitaires protectrices reste encore au stade expérimental. Des progrès importants ont été réalisés dans le domaine de la biologie moléculaire du parasite durant cette décade. Par contre l'apparition et l'extension de souches de *P.falciparum* chimiorésistantes posent de sérieux problèmes thérapeutiques et prophylactiques efficients.

Ainsi à la place de l'optimisme affiché il y a quelques années pour l'éradication du paludisme, l'inquiétude renaît.

D'autre part les moustiques manifestent aussi un certain degré de résistance aux insecticides de contact (DDT).

C'est en 1960 que les premiers cas de souches résistances de *P.falciparum* à la chloroquine ont été décrits en Colombie, alors que l'éradication du paludisme paraissait possible. Ce qui a fait envoler de nombreux espoirs placés dans cette fervente lutte contre ce fléau.

D'abord limitée à l'Afrique de l'Est en commençant par les régions côtières de l'Océan Indien (Comores 1978), la résistance de *P.falciparum* vis à vis de la chloroquine s'est étendue progressivement en Afrique centrale et ne cesse de progresser vers l'Afrique de l'Ouest.

Cette diffusion de la chloroquino-résistance en Afrique Occidentale pose un problème médical quant à la chimiothérapie de cette hémospordiose, en particulier au Mali où la chloroquine est la base de la thérapie du paludisme.

Des informations non objectives circulent sur l'existence de souches de *P.falciparum* résistantes au Mali. Quelques cas isolés ont été décrits chez des expatriés ayant séjourné au Mali (65). Il règne une psychose même dans le monde médical. La tentation devient alors très grande vers l'utilisation de nouveaux antipaludéens (halofantrine, méfloquine, fansimef) au Mali.

Face à cette situation il nous a paru intéressant d'apporter des éléments d'information quant à l'état des données sur la sensibilité actuelle des souches

maliennes de *P.falciparum* aux amino-4-quinoléines.

2 - OBJECTIFS :

2.1. Objectifs Généraux :

- Réunir les données bibliographiques sur la chloroquinosensibilité des souches plasmodiales Maliennes de 1985 à 1991 ;
- Etudier sur le terrain la sensibilité des souches locales de *P.falciparum* aux amino-4-quinoléines.

2.2. Objectifs Spécifiques :

- Inventorier l'ensemble des publications sur le niveau de la sensibilité de *P.falciparum* aux amino-4-quinoléines au Mali de 1985 à 1991 ;
- Tester par des épreuves de 7 jours et de 28 jours in vivo la sensibilité des souches de *P.falciparum* à la chloroquine, à la dose de 25mg par Kg réparties sur trois jours dans une zone rurale de savane Nord soudanienne du Mali ;
- Mesurer par une étude entomologique le niveau de la transmission des plasmodies pendant la période d'étude dans la même zone afin de valider le test in vivo de 28 jours ;
- Dégager une stratégie thérapeutique et prophylactique antipalustre au Mali en 1991 au vu de ces résultats.

3 - RAPPEL SUR LE CYCLE BIOLOGIQUE DU PLASMODIUM

Chez l'homme s'effectue la multiplication asexuée ou schizogonie des plasmodies.

Au cours de la piqûre, l'anophèle femelle injecte avec sa salive des centaines de sporozoïtes (8 à 12 μm) qui gagnent en une demi-heure le foie où s'effectue le cycle tissulaire primaire (ou cycle préérythrocytaire ou schizogonie exoérythrocytaire primaire). Les sporozoïtes pénètrent dans les hépatocytes et prennent le nom de cryptozoïtes. Ceux-ci grossissent leur noyau, se divisent et au bout d'une semaine environ apparaît un schizonte mature ou corps bleu, basophile et volumineux (40 à 100 μm) contenant des milliers de noyaux. Ce plasmode déforme l'hépatocyte hôte et repousse son noyau en périphérie. L'éclatement du corps bleu libère de nombreux mérozoïtes qui embolisent dans les capillaires sinusoidaux et passent dans la circulation sanguine, amorçant les premières schizogonies érythrocytaire. En cas d'infestation par *P. vivax* ou *P. ovale* certains cryptozoïtes peuvent rester quiescents pendant un temps variable (quelques mois à plusieurs années) déterminé génétiquement selon la souche. Il y aurait ainsi 2 populations de sporozoïtes; les uns évoluant immédiatement jusqu'au stade de corps bleu intrahépatique et les autres appelés hypnozoïtes restant «endormis» dans les hépatocytes. *P. falciparum* (et *P. malariae* sans doute) ne comporte ni hypnozoïte ni schizogonie tissulaire secondaire.

Dans le sang s'effectue le cycle asexué érythrocytaire (ou schizogonie érythrocytaire). Chaque mérozoïte pénètre par endocytose dans une hématie et s'y transforme en trophozoïte. Celui-ci mesure 2 à 3 μ et possède une volumineuse vacuole nutritive qui refoule en périphérie son cytoplasme et son noyau. Il grossit et son noyau se divise: c'est alors un schizonte qui se charge de pigment malarique ou hémozoïne. La multiplication des noyaux dont chacun s'entoure d'une plage cytoplasmique forme un schizonte mûr ou un corps en rosace. Parallèlement l'hémoglobine se dégrade et, dans l'hématie parasitée apparaissent des granulations de Schüffner (*P. vivax*, *P. ovale*) des tâches de Maurer (*P. falciparum*) ou rien

(*P.malariae*). Le corps en rosace dilaté et mûr éclate. Cet éclatement est contemporain de l'accès fébrile et libère des mérozoïtes qui vont infester des hématies saines; à l'origine de nouveaux cycles endoérythrocytaires.

Dans le sang s'amorce le cycle sexué ou sporogonique. Après plusieurs cycles schizogoniques érythrocytaires, apparaissent dans les hématies parasitées des éléments à potentiel sexué: les gamétocytes mâles et femelles.

Chez l'**anophèle** s'effectue le cycle sexué ou sporogonique. En prenant son repas sanguin sur un paludéen, l'anophèle femelle absorbe des trophozoïtes, des schizontes, des rosaces, des gamétocytes. Les éléments asexués sont digérés et seuls les gamétocytes ingérés assurent la poursuite du cycle. Dans l'estomac du moustique, le gamétocyte mâle se transforme en gamète mâle par exflagellation et le gamétocyte femelle en gamète femelle par expulsion du corpuscule chromatinién. La fécondation du gamète femelle donne un oeuf mobile, l'ookinète qui traverse la paroi de l'estomac de l'anophèle et se fixe au niveau de sa face externe formant l'oocyste. Dans l'oocyste s'individualisent les sporozoïtes. Libérés par l'éclatement de l'oocyste, ces derniers gagnent avec prédilection les glandes salivaires de l'anophèle. La durée du cycle sporogonique varie de 10 à 40 jours selon la température et l'espèce plasmodiale. Elle est de 12 jours pour *P.falciparum* en Afrique tropicale. Le cycle s'intérompt lorsque la température moyenne est inférieure à 16°C pour *P.vivax* et 18°C pour *P.falciparum*.

Schéma 1: Cycle évolutif des plasmodium chez l'homme et le moustique

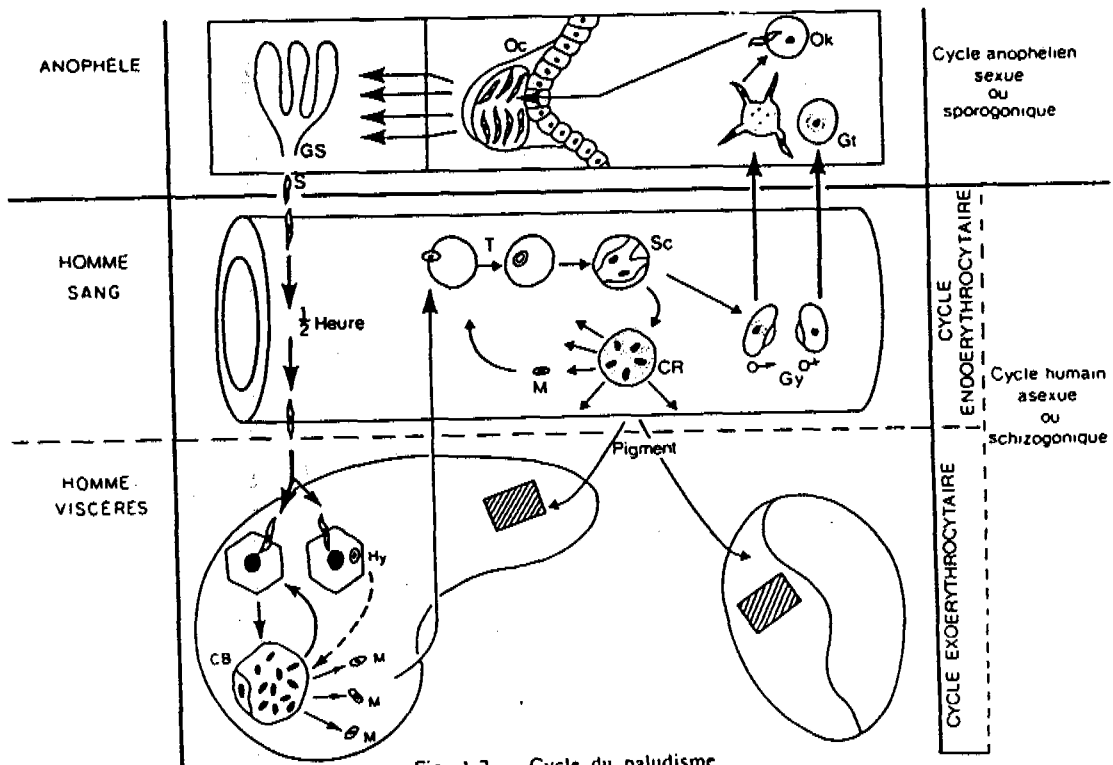


Fig. 1-2. - Cycle du paludisme.

S : sporozoïte.
 Hy : hypozoïte.
 H : hépatocyte.
 CB : corps bleu.
 M : mérozoïte.

T : trophozoïte.
 Sc : schizonte.
 CR : corps en rosace.
 Gy : gamétocyte.

Gt : gamète.
 Ok : ookinète.
 Oc : oocyste.
 GS : glandes salivaires.

4. RAPPEL SUR LES ANTIPALUDIQUES :

4.1. MEDICAMENTS SCHIZONTOCIDES:

4.1.1. La Quinine :

Le plus ancien des antipaludiques, la quinine, alcaloïde naturel extrait du quinquina, demeure l'antipaludique majeur pour le traitement de l'accès palustre grave.

Son absorption est très rapide et sa concentration sanguine maximale est rapidement atteinte, mais sa demi-vie est brève avec une élimination rénale totale en 24 heures. La répétition de la dose journalière est une nécessité pharmacologique. Le produit est administré per os (comprimés à 0,25 ou à 0,50g) ou par voie parentérale. Dans les préparations injectables, les sels de quinine sont volontiers caustiques. On utilise avec une meilleure tolérance soit, une association d'alcaloïdes (quinimax) soit, un mélange de formiate basique de quinine et d'Urethane (quinoforme). Malgré cela, la voie intramusculaire présente des inconvénients : indurations fibrotiques, abcès de la fesse, risques accrus de tétanos si l'injection n'est pas entourée de toute les précautions d'asepsie, éventuellement nécroses musculaires ou même atteinte directe du nerf sciatique.

Les effets secondaires et la toxicité de la quinine dans les conditions normales d'emploi sont limités. Il n'y a ni risque abortif ni tératogénicité.

Aux doses élevées ou en cas d'injections intraveineuses rapides, on peut observer un « choc quininique » en général rapidement regressif et sans gravité réelle mais désagréable et impressionnant (céphalées intenses, brouillard visuel et bourdonnement d'oreille, vertiges, état lipothymique, hypotension). Les intoxications graves, le plus souvent volontaires, entraînent des troubles sensoriels importants, oculaires et auditifs, et des manifestations neuro-encéphaliques. L'élimination de la quinine étant rapide, ces troubles sont transitoires et réversibles.

Comme tous les antipaludiques, le mode d'action exact de la quinine garde quelques mystères. Ce produit se concentre dans le plasma et se fixe sur les hématies dans lesquelles il pénètre. Il intervient manifestement dans l'hématozoaire en s'intercalant dans l'A.D.N., au niveau de plusieurs sites. Ce qui expliquerait la rareté des résistances. L'élément actif de la molécule est probablement le noyau benzénique, oxyquinoléique, que l'on retrouve dans les Amino-quinoléines. La quinine bloque le cycle schizogonique au niveau des mérozoïtes libres dans le plasma ou encore des trophozoïtes avant leur transformation en schizontes. Elle ne semble pas avoir d'activité sur les gamètes.

Toutes les espèces plasmodiales sont en général sensibles à la quinine. Mais il a été décrit des souches de *P.falciparum* à sensibilité diminuée (1) à cet alcaloïde.

La quinine est contre-indiquée s'il y a eu des antécédents d'intolérance: choc quininique, fièvre bilieuse hémoglobinurique.

4.1.2. LES AMINO 4- QUINOLEINES :

La synthèse des amino-4 quinoléines a été réalisée dès 1938 pour le dérivé chloré, la chloroquine et en 1946 pour l'amodiaquine. Considérés comme les antipaludéens de choix jusqu'à la survenue et l'extention des phénomènes de résistance, ces produits ont une action schizontocide excellente et demeurent actuellement les antimalariques les plus utilisés

Le sulfate de chloroquine (Nivaquine, Résochin, Aralen) est présenté sous forme de comprimés à 100 et à 300mg ou sirop à 5mg pour 5ml. Le dihydrorhydrate d'amodiaquine (Flavoquine, Camoquine) existe en comprimés jaunes dosés à 200mg ou en poudre aromatisée de 50mg/mesure. A dose égale, ces produits ont une activité identique et les mêmes effets secondaires. Par voie injectable, seule la chloroquine peut être utilisée avec précaution.

L'absorption des amino -4 quinoléines est rapide mais moindre que celle de la quinine. Cependant l'élimination urinaire est beaucoup plus lente (10% en 48 heures et 70% en 7 jours) et une dose de 600mg maintient des taux sanguins efficaces (20mg/l pendant plusieurs jours).

Ces produits se fixent très largement dans les tissus, où ils se concentrent dans les lysosomes, plus particulièrement dans les cellules du parenchyme hépatique. Ils se concentrent de même électivement dans les organes contenant de la mélanine. Les amino-4 quinoléines se concentrent aussi électivement dans les érythrocytes infectées. La concentration est nettement plus élevée dans les infections à plasmodium sensibles à la chloroquine que pour les infections à parasites pharmacorésistants (1).

Dans le plasma et les tissus, la majeure partie de la chloroquine demeure inchangée mais la dégradation de la chaîne alcoylamine produit des métabolites.

Ces produits sont des schizontocides de la phase endo-érythrocytaire. Ils se fixent sur le noyau des plasmodium après avoir pénétré dans le globule rouge et s'intercalent dans les brins de la double hélice de l'A.D.N. inhibant ainsi sa réplication.

Ils n'ont pas d'action sur les formes tissulaires exo-érythrocytaires. Leur activité gamétocytocide est nulle pour *P.falciparum*, très faible et discutée pour les autres espèces plasmodiales.

Les amino-4 quinoléines sont les schizontocides efficaces, maniabiles et moins onéreux (1). Des quantités considérables ont donc été distribuées dans le monde entier, ce qui a provoqué l'émergence et la diffusion de souches résistantes de *P.falciparum*.

Aux doses thérapeutiques ou clinoprophylactiques habituellement employées la toxicité est minime. Certains malades ont signalé des céphalées, du prurit et parfois de l'amblyopie après l'administration de doses thérapeutiques. Tous ces symptômes disparaissent habituellement dès l'arrêt du traitement. Lorsqu'elle est administrée rapidement par voie intraveineuse, la chloroquine peut provoquer une chute de la tension artérielle qui peut être mortelle.

Le dommage oculaire peut prendre la forme d'une neurorétinite qui est probablement liée à l'affinité prononcée des amino-4 quinoléines pour les tissus contenant de la mélanine. Les lésions cutanées peuvent prendre différentes formes allant du prurit sévère à divers types de pigmentation. Une pigmentation de la

matrice des ongles et du palais a été signalée chez des sujets ayant absorbé de l'amodiaquine pendant une longue période.

Comme amino-4 quinoléines il existe aussi la cycloquine et l'amopyroquine mais qui sont d'usage peu courant.

4.1.3. LES ANTIFOLIQUES :

Cette catégorie de médicaments comprend les sulfamides et les sulfones dont l'activité schizontocide est connue de longue date (sulfaméthazine, 1940) mais qui est lente et modeste, ce qui a justifié la mise en réserve de ces produits pendant plus de 30 ans.

Les antifoliques agissent par inhibition enzymatique de la synthèse de la synthétase de l'acide déhydrofolique nécessaire à la croissance des plasmodium et que ces parasites synthétisent à partir de l'acide para-amino-benzoïque. L'apparition de souches résistantes à la chloroquine et aux antifoliques leur a valu un regain d'intérêt, surtout en association avec d'autres produits.

Les sulfamides et les sulfones sont très efficaces contre les formes sanguines asexuées de *P. falciparum* mais le sont moins contre celles des autres espèces.

Les deux composés actuellement utilisés comme antipaludiques sont la Sulfadoxine et le Sulfalène, qui ont tous les deux une demi-vie prolongée chez l'homme. On estime que la demi-vie de la sulfadoxine peut aller de 100 à 200 heures. Seule une faible proportion est métabolisée, 5% environ en dérivé acétyl-4 et 2 à 3% en glucuronide.

Le sulfalène est un autre sulfamide à demi-vie prolongée (65 heures) chez l'homme. Ces deux composés sont utilisés en association avec la pyriméthamine, dont la demi-vie est également longue.

Il existe d'autres composés tels que: la Sulfadiazine, la Dapsone et l'Acédapsone.

Lors de l'administration des antifoliques il se produit parfois des réactions cutanées sous forme d'urticaire. Des réactions plus graves, de type Stevens-Johnson, ont été rarement enregistrées à la suite de surdosage. On observe souvent une légère baisse de la leucocytose, souvent même une agranulocytose. Les sulfamides et les sulfones peuvent précipiter l'hémolyse chez les sujets qui présentent un déficit en G6-PD et causer une hémolyse intravasculaire.

4.1.4. LES ANTIFOLINIQUES :

Les antifoliniques bloquent l'enzyme déhydrofolate-réductase qui transforme l'acide folique en acide folinique et donc la synthèse purique et pyrimidique des plasmodies. On distingue:

- Le chlorhydrate de proguanil (Paludrine) à élimination rapide, efficace et non toxique. Il agit bien sur les formes érythrocytaires et sur les formes intrahépatiques ;

- La Pyriméthamine (Malocide, Daraprim) qui a au contraire une action prolongée et pas toxique aux doses antipalustres. Par contre, dans le traitement de la toxoplasmose, on observe quelques ennuis sanguins.

- Le triméthoprime n'est utilisé qu'en association avec un autre sulfamide d'action rapide, le sulfaméthoxazole dans le cotrimoxazole.

La Pyriméthamine a une action schizontocide lente. Présentée en comprimés dosé à 25mg, elle est absorbée lentement. Sa demi-vie est longue (supérieure à 100 heures). Elle est donc mieux adaptée à des fins prophylactiques et ne trouve sa justification thérapeutique qu'en association avec d'autres médicaments.

La Pyriméthamine est soupçonnée d'embryotoxicité basée plus sur ses caractéristiques chimiques que sur des observations cliniques, mais il est classique de recommander l'abstention en prophylaxie chez la femme enceinte.

4.1.5. LES ASSOCIATIONS SCHIZONTOCIDES :

Les complémentarités d'action des schizontocides antifoliques et antifoliniques au niveau du métabolisme de l'acide para-amino-benzoïque des hématozoaires ont logiquement conduit à des associations médicamenteuses antiplasmodiques. Les associations les plus utilisées sont :

- L'association sulfone-pyriméthamine (Maloprim) qui contient 100 mg de Dapsone et 12,5mg de pyriméthamine par comprimé. L'activité parasiticide est lente à obtenir et l'efficacité thérapeutique médiocre. Par contre le produit a une longue durée d'action et l'usage en prophylaxie est donc légitime. L'efficacité est bonne vis-à-vis des souches chloroquino-résistantes mais insuffisante pour les souches polychimio-résistantes.

- L'association sulfadoxine-pyriméthamine (Fansidar), contient 500mg de sulfadoxine et 25 mg de pyriméthamine par comprimé. L'absorption est assez rapide avec un taux sérique efficace en moins de 6 heures et une activité prolongée au delà de 10 jours. Le produit est actif contre la plupart des souches résistantes à la chloroquine et à la pyriméthamine. En thérapeutique, une prise unique de 3 comprimés chez l'adulte est généralement suffisante. Les ampoules (800mg de sulfadoxine + 40mg de pyriméthamine pour 2ml), utilisables par injection intramusculaire permettent le traitement d'un accès palustre en dose unique de 2 ampoules chez l'adulte. Chez les enfants, il n'y a pas de contre-indications particulières et on calcule aisément la dose utile selon le poids. Chez la femme enceinte, le traitement d'un accès peut être bien entrepris, car le risque tératogène du produit n'est pas prouvé.

En principe le Fansidar® n'est indiqué qu'à titre curatif, par voie injectable en dose unique surtout lorsque des troubles digestifs interdisent la chloroquine per os.

Son usage est recommandé dans les zones de chloroquino-résistance, mais il faut savoir que des souches résistantes à ce médicament sont fréquentes dans différentes zones du Sud-Est Asiatique, en Amazonie, en Guyane ont été récemment décrites en Tanzanie et au Kenya(1).

L'utilisation de cette association en prophylaxie est discutable. Dans les zones où il n'y a pas été décrit de souches résistantes aux amino-4 quinoléines, elle est inutile et ne peut qu'accroître dangereusement une pression médicamenteuse néfaste.

4.1.6. LES ANTIBIOTIQUES A ACTION SCHIZONTICIDE :

Le cotrimoxazole, association de sulfaméthoxazol et de triméthoprimé (Bactrim[®], Eusaprim[®]) agit comme antifolique et antifolinique, exactement comme l'association sulfadoxine-pyriméthamine. Cependant son action est lente et son activité moindre que celle du Fansidar. Son utilisation sans discernement devant un état fébrile peut masquer un diagnostic de paludisme.

Les Tétracyclines : la Minocycline et la Doxycycline ont une certaine activité vis-à-vis de souches de *P.falciparum* chloroquino-résistantes. La disparition de la parasitémie est néanmoins très lente (8 à 10 jours). En pratique, ces produits ne peuvent être utilisés qu'en association avec de la quinine ou de l'amodiaquine.

La clindamycine (mais non la lincomycine) possède les mêmes propriétés mais la gravité des effets secondaires, la nécessité de prises répétées ne facilitent pas son emploi.

La Spiramycine et l'Erythromycine ont également une activité antiplasmodiale, mais modeste.

4.2. LES MEDICAMENTS GAMETOCYTOCIDES

Ce sont tous des dérivés des Amino-8 quinoléines, une famille de médicaments très connus depuis le premier quart du 20ème siècle. En effet la Pamaquine a été synthétisée en 1925 et la Primaquine en 1946. Ce dernier reste le gamétocytocide de référence.

Ces produits agissent en inhibant la synthèse du D.N.A. des gamétocytes présents dans le sang humain et qui ne peuvent pas, ensuite, se transformer en gamètes chez l'anophèle. L'arrêt du cycle sporogonique bloque ainsi la transmission palustre au sein d'une population. Les Amino-8 quinoléines ont également une modeste activité schizontocide vis-à-vis de *P.falciparum* Ils ont une activité sur les formes éxoérythrocytaires de *P.vivax* et *P.ovale*. L'association à un

schizontocidé permet d'assurer une cure radicale de l'infection palustre avec une suppression du risque de réchute.

Pour la Primaquine, produit le plus employé, l'absorption est rapide avec un pic sérique atteint en deux heures. La concentration tissulaire (hépatique en particulier) est élevée. Ce médicament est présenté sous forme de comprimés à 5mg et les doses préconisées sont de 15mg/jour après un traitement des accès par un schizontocidé, à poursuivre en association avec celui-ci (par exemple 100mg/jour de chloroquine pendant 15 jours).

Malheureusement les Amino-8 quinoléines et en particulier la Primaquine sont d'une part mal tolérés et d'autre part toxiques.

Des neutropénies et des agranulocytoses ont été observées, de même que des troubles gastro-intestinaux fréquents. On a suspecté une possible action immuno-suppressive, par inhibition de la prolifération des lymphocytes en réponse à une infection.

La toxicité des amino-8 quinoléines (méthémoglobinémie, hémolyse chez les déficitaires en G6-PD) limite leur utilisation.

4.3. LES NOUVEAUX MEDICAMENTS

L'extension rapide des zones de prévalence de *P.falciparum* chloroquino-résistants puis l'apparition de polychimio-résistances ont stimulé la recherche de nouveaux antipaludéens. Parmi les médicaments nouveaux, disponibles ou encore à l'étude, il faut essentiellement mentionner :

- les composés étudiés par le Walter Reed Army Institute (série de composés WR) du programme de recherche coordonnée aux Etats-Unis par l'Agence Internationale de Développement (USAID): les Quinoléine Méthanolis (dont la Méfloquine) et les Phénanthrène-Méthanolis (dont l'Halofantrine) ;

- le Qinghaosu, issu de la pharmacopée traditionnelle chinoise.

* **La Méfloquine** est un dérivé synthétique voisin de la quinine et qui est étudié chez l'homme depuis 1975. Elle est présentée sous forme de comprimés d'hydrochloride à 250mg et à 50mg.

Le mode d'activité vis-à-vis des plasmodium est celui de la quinine mais il n'y a pas de fixation ultérieure au niveau de l'A.D.N., à l'inverse de ce qui se passe avec les amino-4 quinoléines. Ce qui limite les risques de résistance croisée.

L'absorption du médicament est rapide, dépassant 100mg/ml dès la troisième ou la quatrième heure, mais n'atteignant la concentration maximale qu'entre la 48ème et 72ème heure (pour une prise de 1000mg). La demi-vie est de 15 jours avec des variations individuelles allant de 8 à 23 jours. On observe souvent des effets secondaires: nausées et vomissements, sensation de malaise et d'ébriété, vertiges survenant 3 à 10 heures après la prise du médicament. Actuellement on administre des doses fractionnées pour améliorer la tolérance, encéphalopathie et coma. Le schéma thérapeutique comprend: une première administration de 750mg (3 comprimés à 250mg) dès le diagnostic posé, une deuxième dose de 500mg 8 heures plus tard et une prise de 250 mg 8 heures après (chez l'adulte pesant plus de 60 kg).

Chez l'enfant la dose est de 25mg/kg de poids corporel.

Ce médicament ne doit cependant pas être utilisé de façon inconsidérée pour limiter la diffusion de souches résistantes déjà connues. Une association médicamenteuse avec d'autres antipaludéens à points d'impact différents et possédant des caractéristiques pharmacocinétiques complémentaires (Méfloquine + Sulfadoxine + Pyriméthamine) est déjà réalisée avec le "Fansimef" par le laboratoire Roche. Les résultats des essais cliniques effectués au Mali et ailleurs seraient prometteurs. Un comprimé de cette association renferme 250mg de méfloquine (sous forme de chlorhydrate), 500mg de sulfadoxine et 25mg de pyriméthamine.

*Parmi les phénanthrène-méthanol, l'**Halofantrine** est le plus intéressant. Très bien toléré ce produit est un schizontocide très actif, notamment sur les souches de *P.falciparum* hautement résistantes à la chloroquine. Dans les zones de polyrésistance il semble prendre le relais de la méfloquine.

*Le **Qinghaosu** ou Artémisine est le principe actif d'une plante dénommée Qing Hao (*Artemisia annua*), très anciennement connue dans la pharmacopée chinoise pour le traitement des maladies fébriles.

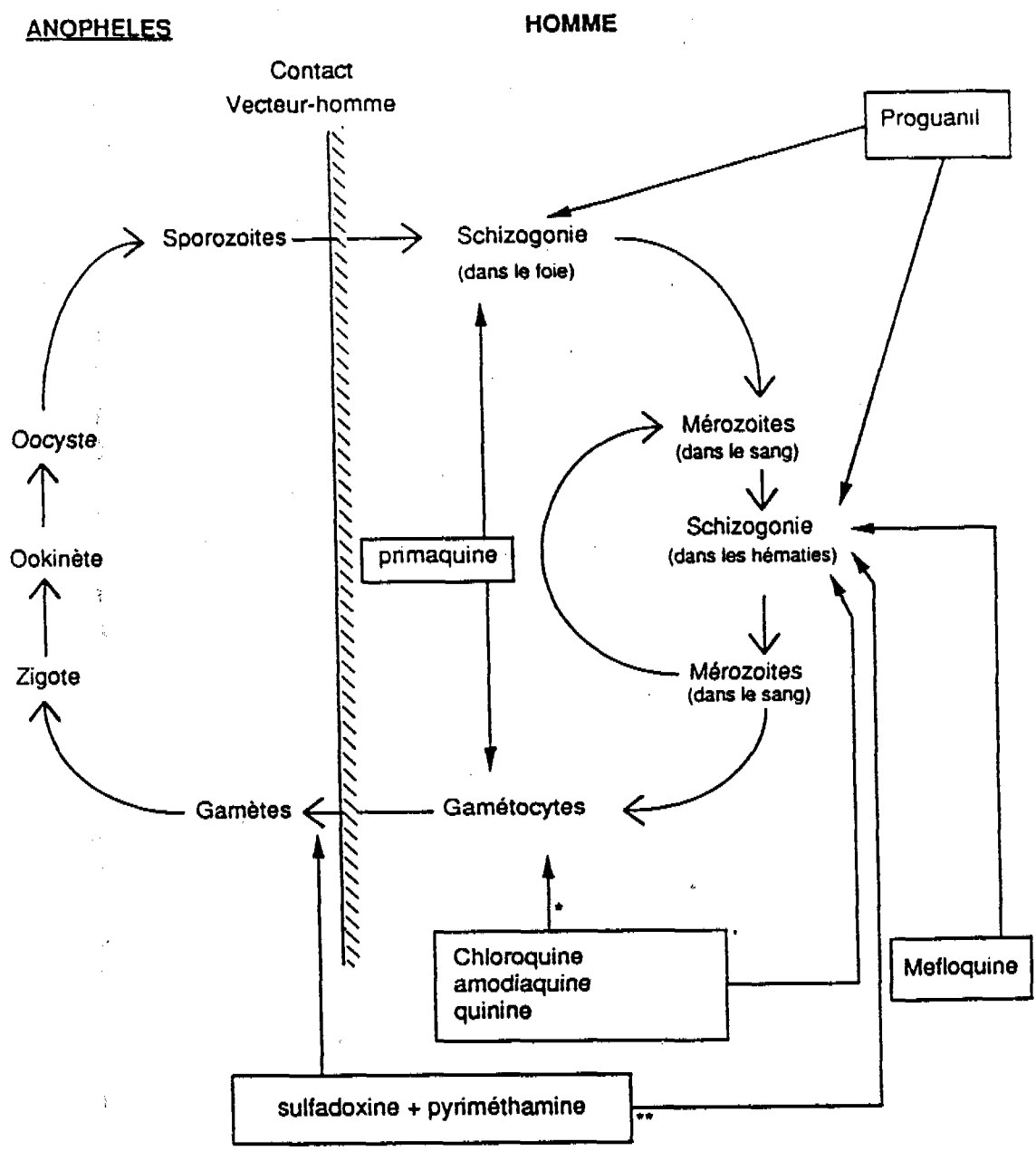
Le Qinghaosu a été isolé en 1972. Per os il est rapidement et complètement absorbé, mais la concentration plasmatique est faible. 80% de la dose est éliminée en 24 heures et la demi-vie est de l'ordre de 4 heures. Par voie parentérale, la diffusion tissulaire est très large mais l'élimination est également rapide.

Le mode d'action du Qinghaosu et de ses dérivés (Arthemmer, Arthémesate) se situe au niveau de la membrane parasitaire. Seules les formes sanguines asexuées sont détruites et il n'y a aucune action sur les gamétocytes.

TABEAU 1 : Principaux produits antimalariques. Mode d'action selon le stade de développement du Plasmodium

FAMILLES CHIMIQUES	PRODUITS	ACTION ANTIPLASMODIALE	MODE D'ACTION
Alcaloïde du quinquina Amino-4-quinoléines 9 Amino-acridrine Quinoléine méthanol Phénanthrène-Méthanol	Quinine Chloroquine Amodiaquine Mépaquine Méfloquine Halofantrine	Schizonticides sanguins d'action rapide Gamétocytocides des pour <u>P. vivax</u> <u>P. malariae</u>	-Pénétration et concentration dans l'hématie Fixation sur le DNA plasmodial avec inhibition de sa replication et blocage de divers enzymes -Cas de la chloroquine : blocage des protéases acides et des peptidases dans les phagosomes entraînant une carence en acides aminés
<u>Antifoliques</u> <u>Diamino-pyrimidine</u> Diguamides	Pyriméthamine Triméthoprime Proguanil	Schizonticides sanguins d'action lente Schizonticides tissulaires <u>P. falciparum</u> Schizonticides des <u>P. vivax</u> Sporonticide très actif	-Inhibition de la déhydrofolate réductase, de la biosynthèse du nucléotides
<u>Antifoliques</u> <u>Sulfamides</u> Sulfones Sesquiterpène lactone	Guinghaosu (artémise)	Faible action schizonticide si utilisés isolément Schizonticides sanguins d'action rapide	Compétition avec l'acide paraaminobenzoïque Action au niveau de la membrane plasmodiale
Amino-8-quinoléine	Primaquine	Gamétocytocide très actif Sporonticide schizonticide tissulaire peu actif sur les hypnozoïtes de <u>P. vivax</u> , <u>P. ovale</u>	Gamétocytocide en inhibant la transformation gamétocytes en gamètes chez l'amphète

Fig.14
 REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU CYCLE BIOLOGIQUE DU PARASITE DU PALUDISME ET LES
 POINTS D'IMPACT DES PRINCIPAUX MEDICAMENTS ANTIPALUDIQUES



• sauf *P. falciparum*
 ** peu efficace pour le traitement de *P. vivax*

5. La chimiosensibilité de *P.falciparum* aux amino-4-quinoléines

En matière de paludisme, la pharmacorésistance a été définie comme "l'aptitude d'une souche d'hématozoaire à survivre ou à se reproduire malgré l'administration et l'absorption d'un médicament efficace employé à des doses égales ou supérieures aux doses ordinairement recommandées mais dans les limites de tolérance du sujet » (O.M.S, 1965, 1973) (10).

5.1. HISTORIQUE :

L'apparition en 1960 en Colombie, d'une souche de *P.falciparum* résistante à la chloroquine, fait s'envoler les espoirs mis dans le programme mondial d'éradication du paludisme.

Le concept d'éradication du paludisme, élaboré à partir des années 50 alors que l'emploi des insecticides à action rémanente venait d'être introduit dans de nombreux domaines de la lutte antivectorielle, est adopté par la 8ème Assemblée Générale de l'O.M.S. Ceci aboutit à l'élaboration d'un plan intégré de lutte antipaludique en 1956. A l'époque déjà, les informations faisant état d'une apparition de souches de plasmodies résistantes au proguanil et à la pyriméthamine, faisaient l'objet d'une certaine déception.

Compte-ténu des expériences effectuées et des observations faites sur le terrain, la communauté internationale avait une confiance absolue aux amino-4 quinoléines dans les programmes d'éradication du paludisme. Cette confiance en ces produits va être fortement ébranlée, lorsqu'en 1960 les américains YOUNG et MOORE signalèrent l'échec de la chloroquine dans le traitement d'une infection à *P.falciparum*, en Colombie.

Les mêmes observations concernant des doses curatives de chloroquine sur *P.falciparum* ont été faites au Vénézuéla et au Brésil (61). A la même période, l'existence de souches de *P.falciparum* résistantes à la chloroquine est signalée en Thaïlande, dans la presqu'île Malaise et d'autres pays du Sud-Est Asiatique. En particulier au sud du Viet-Nam, où le nombre élevé de cas observés chez les militaires américains cause alors beaucoup d'inquiétude.

En Amérique du Sud les résistances se sont étendues entre 1975 et 1980 à toute l'Amazonie, région géographique qui déborde au Nord le bassin de l'Amazone sur les Guyanes, le Surinam, le Vénézuéla et la Colombie; à l'Ouest sur le Pérou et la Colombie, au Nord du Brésil et la frontière Bolivie-Brésil. En Amérique Centrale les résistances n'avaient été décrites qu'au Panama (1).

Dans le Sud-Est Asiatique la diffusion s'est faite rapidement entre 1975 et 1980 dans les nombreuses populations de Chine du Sud, de Malaisie, d'Indonésie, des Philippines. Les polychimio-résistances ont rapidement suivi, jusqu'à être totales dans des zones heureusement limitées: la frontière Thaïlande - Laos, en Birmanie, au Viet-Nam, à Bornéo et à quelques îles tristement privilégiées (Haïnon par exemple) (1).

Dans le sous-continent Indien, l'extension s'est produite par contiguïté au Bengladech et dans toutes les régions Est de l'Inde et du Nord jusqu'au Népal (1).

En Afrique l'épidémiologie du paludisme a subi ces trente dernières années un profond changement dû à l'apparition de souches de *P.falciparum* résistantes à la chloroquine. Longtemps limitée aux continents Américain et Asiatique la chloroquinorésistance n'a cessé de s'étendre depuis 1978 sur le continent Africain. Elle n'épargne actuellement que peu de pays en l'Afrique intertropicale. Elle est en perpétuelle évolution rendant caduque la notion de zones géographiques (71). Les voyageurs et résidents non immuns en particulier sous chimioprophylaxie, jouent un rôle sentinelle évident dans l'émergence précoce des foyers de résistance.

La résistance du *P.falciparum* à la chloroquine était suspectée en 1972 en Ethiopie et sur la côte-est de Madagascar et en 1975 au Mozambique. Elle a été signalée mais jamais confirmée au Nigéria. En 1978 quelques cas sporadiques ont été décrits aux Comores et à Madagascar. Ces cas étaient isolés d'abord puis multiples chez des migrants et même au sein des populations locales. La confirmation in vitro est intervenue en 1978 au Kenya et en Tanzanie (72).

L'hypothèse d'une introduction de souches résistantes en provenance de l'Asie du Sud-Est ou de l'Inde, régions touchées depuis 1960 et 1973 est hautement probable.

L'évolution de proche en proche des foyers de chloroquinorésistance au cours des 10 dernières années est en faveur de l'hypothèse d'une introduction de souches exogènes. La résistance était signalée en 1982 au Soudan et en 1983 au Malawi, Botswana, Zimbabwe, Zambie et Mozambique. A partir de 1984 l'extension était notable en Afrique Centrale par le Rwanda, le Burundi, le Zaïre, la Namibie et l'Angola. La côte ouest était atteinte en 1985 (Cameroun, Guinée Equatoriale, Gabon, Congo). La progression vers le Nord-Ouest a ensuite concerné le Bénin (1986), le Togo le Ghana, le Nigéria et la Côte-d'Ivoire (1987) puis le Burkina Faso et le Mali (1988), la Sierra-Léone, le Libéria , le Tchad, le Niger et le Sénégal (1989). (71).

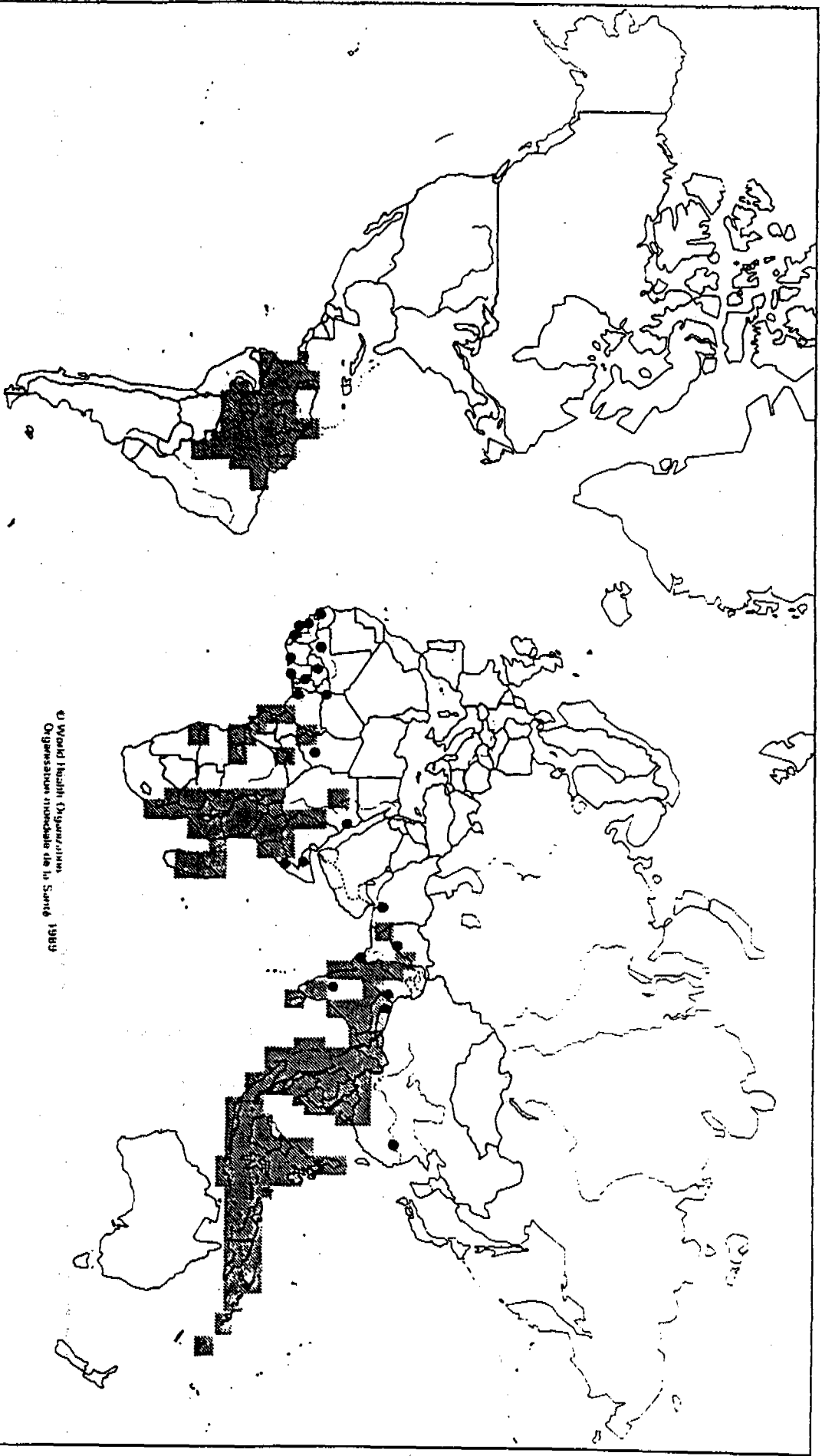
Depuis 1987 des cas de chloroquino-résistance importés du Mali ont été décrits en France chez des sujets non immuns (Européens et Maliens) ayant séjourné au Mali (65).

TABLEAU 2 : Classification des pays en fonction de la chimiorésistance de *P. falciparum*

	<i>GROUPE I : Pas de P. falciparum ou pas de chloroquinorésistance rapportée</i>	<i>GROUPE II : Chloroquinorésistance présente</i>	<i>GROUPE III : Prévalence élevée de chloroquinorésistance et multirésistance</i>
<i>AMERIQUE</i>	<i>Argentine, Belize, Costa Rica, Guatemala, Haïti, Honduras, Mexique, Nicaragua, Paraguay, République Dominicaine, Salvador, Panama (Nord)</i>	<i>Bolivie, Panama (Sud) Pérou</i>	<i>Brésil, Colombie, Equateur, Guyana, Guyane Française, Surinam, Vénézuéla</i>
<i>ASIE</i>	<i>Chine (Nord-Est), Maldives</i>	<i>Bangladesh, Bhoutan, Inde, Indonésie, Malaisie, Népal, Pakistan, Sri-Lanka</i>	<i>Birmanie, Cambodge, Chine (Etats du Sud et Haïnan), Laos, Philippines, Thaïlande, Vietnam</i>
<i>AFRIQUE</i>		<i>Afrique du Sud (Transvaal, Natal), Angola, Burkina Faso, Botswana, Nord Cameroun, Comores, Djibouti, Ethiopie, Gambie, Ghana, Libéria, Madagascar, Mali, Namibie, Niger, Nigéria, Ouganda, République Centrafricaine, Sénégal, Sierra Léone, Somalie, Soudan, Swaziland, Tchad, Zambie, Zimbabwe</i>	<i>Bénin, Burundi, Sud Cameroun, Congo, Côte d'Ivoire, Gabon, Guinée Equatoriale, Kenya, Malawi, Mozambique, Rwanda, Tanzanie, Togo, Zaïre</i>
<i>MOYEN ORIENT</i>	<i>Arabie Saoudite, Emirats Arabes Unis, Iraq, Oman, Syrie, Turquie, Yemen, Yemen Démocratique</i>	<i>Afganistan, Iran</i>	
	<i>Iles Salomon, Papouasie, Nouvelle Guinée, Vanuata</i>		

Source = B E H, 1989, N°26

Carte 5 Zones dans lesquelles une résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine a été enregistrée



© World Health Organization
Organización Mundial de la Salud 1989

● Importance avant 1986 - Signalé après 1986

L'O.M.S. comprend très vite qu'il serait grave de laisser se répandre cette résistance à la chloroquine(1965), qui reste le médicament le plus utilisé contre le paludisme et aussi l'arme de choix pour l'éradication.

Elle s'attache donc à évaluer toutes les informations concernant une pharmacorésistance possible et à fixer des critères pour l'identification de ce phénomène avec des techniques standardisées.

Cette institution a mis alors en oeuvre un programme de recherche à trois volets :

- l'Evaluation des différentes données épidémiologiques de cette pharmacorésistance ;
- l'Etude des mécanismes biologiques en jeu ;
- la Recherche de nouveaux composés pouvant servir d'agents thérapeutiques de remplacement.

5.2. LES MECANISMES DE LA RESISTANCE DE *P.FALCIPARUM* AUX AMINO-4 QUINOLEINES:

5.2.1. LE MODE D' ACTION DES AMINO-4 QUINOLEINES:

Les Amino-4 quinoléines sont des schizontocides de la phase endoérythrocytaire, sans action sur les formes exoérythrocytaires tissulaires hépatiques. Leurs mécanismes d'action selon les hypothèses actuelles sont :

1°) Il y a un gradient de PH de l'espace extracellulaire à l'espace intracellulaire des hématies. Ce gradient de PH s'accroît lorsque l'hématie est parasitée car il y a production d'acide lactique par glycolyse plasmodiale. Ceci entraîne un PH très acide à l'intérieur de la vacuole nutritive du plasmodium (A).

2°) Le parasite se nourrit en digérant l'hémoglobine de l'hématie. L'oxydation de l'hème donne de la ferriprotoporphyrine IX(FP) qui est toxique pour le parasite. Aussi cette FP est détoxifiée par des protéines plasmodiales permettant ainsi son développement. (A).

3°) La chloroquine étant lipophile (liposoluble), elle peut traverser les membranes cellulaires.

De plus elle a la caractéristique de pouvoir se lier à un proton H^+ : c'est la "protonation". Le complexe chloroquine- H^+ devient lipo-insoluble et se concentre dans la vacuole parasitophore. Cette concentration est d'environ 200 fois dans l'hématie parasitée et 20 fois dans l'hématie normale; par rapport à la concentration sérique. Ensuite la chloroquine se lie de façon préférentielle à la ferriprotoporphyrine IX. Le complexe FP-CQ est toxique pour les membranes (plasmodiale et érythrocytaire). Il entraîne une fuite ionique (potassium) et la destruction du parasite (B).

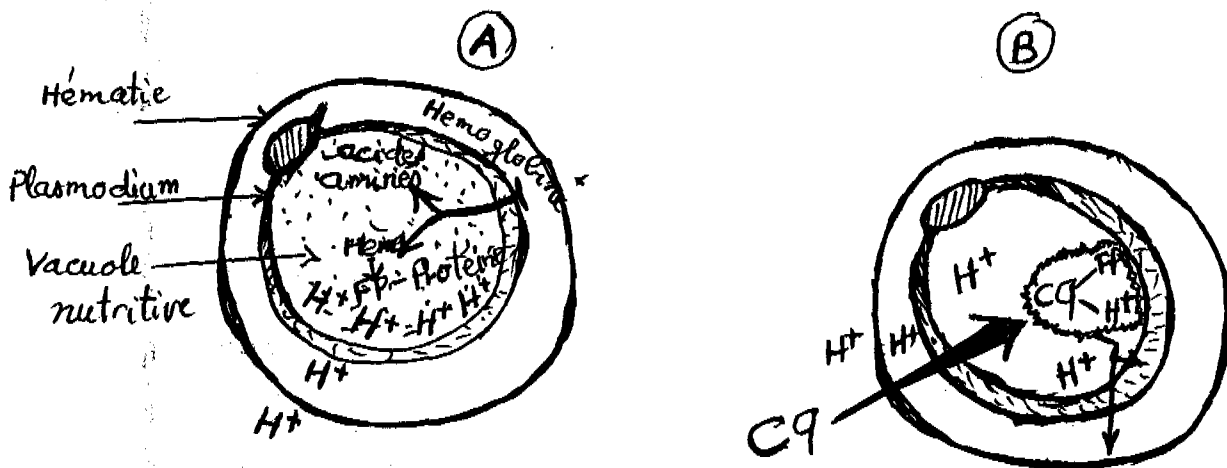
De ce mécanisme d'action des Amino-4 quinoléines on peut expliquer les mécanismes de la chimiorésistance par:

- une altération des mécanismes de concentration de la molécule dans l'hématie et dans la vacuole nutritive du parasite résistant;

- une présence chez le parasite résistant d'une proprotéine ayant une plus forte affinité pour la ferriprotoporphyrine IX entrant en compétition avec la chloroquine.

Ces mécanismes pourraient coexister pour qu'il y ait chimiorésistance expliquant ainsi son caractère progressif.

Schéma n°2 : Mécanisme de la chloroquinorésistance



5.2.2. LES CONDITIONS D'APPARITION DE SOUCHES RESISTANTES:

Dans une zone d'endémie palustre la population de plasmodies est en fait constituée d'espèces, de sous-espèces et d'individus qui sont maintenus en existence grâce à l'hôte vertébré (l'homme) chez lequel ils se multiplient de façon asexuée. Chez l'hôte invertébré (l'anophèle femelle) a lieu la multiplication sexuée donc l'échange de gènes. Au cours de la méiose dans l'estomac de l'anophèle, il se produit de temps en temps des mutations génétiques (modification structurale des chaînes d'A.D.N.). Les éléments ainsi nés sont différents de la majorité des individus de la population d'origine. Si ces mutants ont des caractéristiques telles qu'ils entravent l'un au moins des mécanismes d'action des amino-4 quinoléines (ci-dessus), il apparaît donc des mutants de *P.falciparum* résistants à ces médicaments.

Ainsi, l'apparition de mutants résistants est un phénomène qui se produit de façon spontanée et aléatoire et qui n'est pas lié à tel ou tel antipaludéen. Ce qui veut dire que dans une zone d'endémie palustre des mutants résistants peuvent se trouver là déjà, avant l'utilisation de tout antipaludéen.

La mutation génétique est ici de type chromosomique stable. Elle apparaît brusquement avec une intensité variable (faible ou élevée) selon les médicaments. Pour la chloroquine les fortes résistances sont dues à plusieurs mutations successives indépendantes les unes des autres. Mais pour d'autres médicaments (pyriméthamine) une seule mutation peut donner une résistance de forte intensité.

Au total, la condition indispensable d'émergence et de diffusion d'une chimio-résistance est la présence de mutants résistants.

5.2.3. LES FACTEURS FAVORISANTS LA RESISTANCE :

5.2.3.1. LA PRESSION MEDICAMENTEUSE ET LA SELECTION DE MUTANTS RESISTANTS :

Dans une zone d'endémie les premiers éléments mutants qui apparaissent sont généralement très peu nombreux par rapport aux éléments sensibles. Selon la loi des équilibres biologiques, leur nombre reste peu élevé tant qu'il n'y a pas d'intervention de facteurs extrinsèques. Dans cette zone, lorsqu'on utilise le médicament celui-ci va éliminer les individus sensibles et l'équilibre sera rompu en faveur des mutants résistants. Donc plus on utilisera ce médicament plus on sélectionnera des mutants résistants. Ainsi la résistance à la chloroquine a été souvent observée dans les pays où le produit a été employé massivement en chimioprophylaxie collective.

Il en résulte donc que c'est la pression médicamenteuse qui permet l'émergence de mutants préexistants et non l'adaptation progressive des parasites à des doses croissantes de produit.

5.2.3.2. LE DEGRE D'IMMUNITE DE LA POPULATION :

L'immunité (humorale et ou cellulaire) agit de la même façon sur les plasmodia qu'ils soient sensibles ou mutants résistants à un médicament. Dans une zone d'hyperendémie palustre ou dans une zone de transmission continue, le degré d'immunité de la population est élevé et les mutants résistants qui échappent à l'action du médicament sont détruits par les facteurs de l'immunité.

Si le niveau d'immunité n'est pas suffisant (sujets expatriés, jeunes enfants non encore immuns, adultes en état de déficit immunitaire), ces mutants résistants pourront se multiplier et engendrer des manifestations cliniques.

Cette catégorie de sujets permet donc la diffusion de mutants résistants, surtout en cas de chimioprophylaxie de masse.

5.2.3.3. LES VOYAGES :

Un voyageur non immun va emmener les gamétocytes de mutants résistants d'une zone de chimiorésistance dans une zone encore indemne. Les individus épidémiologiquement dangereux (non immuns) de cette zone d'accueil vont permettre le développement et la dissémination de souches plasmodiales

résistantes.

5.2.3.4. LE ROLE DES VECTEURS ANOPHELIENS :

La capacité vectorielle d'une espèce anophélienne donnée joue un rôle considérable dans l'extension des souches résistantes. c'est ainsi qu'en Asie du Sud-Est, une relation directe a pu être établie entre la diffusion de souches de *P.falciparum* chloroquino-résistantes et la présence d'*Anophèles balabalensis s.l.*, très bon vecteur, anthrophile et exophile, par conséquent difficile à atteindre dans le cadre d'une lutte antivectorielle.

N.B.: Plusieurs de ces facteurs peuvent jouer en même temps .

5.3. CAS DES FAUSSES RESISTANCES :

Des facteurs humains individuels peuvent être responsables de fausses résistances :

- Troubles d'absorption médicamenteuse: défaut d'absorption intestinale vomissements immédiats du médicament, diarrhées incoercibles avec élimination presque totale et immédiate du produit ;

- Troubles du métabolisme du médicament: déficiences enzymatiques du sujet ne permettant pas au produit d'être sous sa forme de métabolite actif dans le plasma.

5.4. LES TECHNIQUES D'EVALUATION DE LA CHIMIOSENSIBILITE:

Décrites à partir des données cliniques, les résistances sont selon les critères de l'O.M.S. classées d'après l'évolution de la parasitémie. Entre la sensibilité complète et la résistance totale, il existe trois stades :

RI : les parasites disparaissent un peu moins vite que dans le cas des souches sensibles. Une récurrence est possible à partir du 7ème jour.

RII : Les parasites sont partiellement détruits à la fin de la cure (environ 25% de la parasitémie initiale). Elle reprend ensuite son niveau antérieur au traitement à partir de la deuxième semaine.

RIII : La parasitémie demeure à 75% au moins de son niveau initial. Elle peut aussi rester inchangée.

Pour évaluer la réponse aux médicaments plusieurs épreuves sont utilisées. Pour le choix de la technique la mieux adaptée, on devra tenir compte du degré d'immunité des sujets à tester, de leur état clinique et de la période de temps au cours de laquelle on peut efficacement les suivre. Un autre facteur à considérer est la situation épidémiologique locale qui déterminera le risque que courent les sujets d'être réinfectés au cours de la période d'observation. La sensibilité des souches de *P.falciparum* peut être testée par des épreuves in vivo et in vitro.

5.4.1. LES TECHNIQUES D'EVALUATION IN VIVO DE LA REPONSE DES PARASITES DU PALUDISME AUX AMINO-4- QUINOLEINES :

Les plus utilisées sont les suivantes:

1°) L'épreuve pratique type O.M.S., qui consiste à administrer 25mg de chloroquine base par kilogramme de poids corporel durant trois jours, avec une période d'observation de sept jours (elle est parfois appelée « épreuve de sept jours »).

2°) La même épreuve, mais avec une période d'observation portée à 28 jours au total, désigne l'«épreuve prolongée ».

3°) L'épreuve par une dose unique ou « variante » consiste à administrer 10mg de chloroquine base par kg de poids corporel. Elle sera choisie :

a/: lorsque, pour une raison quelconque, on ne peut pas poursuivre le traitement pendant trois jours ;

b/: dans les régions de forte endémicité où, par suite du degré élevé d'immunité de la population, une dose unique de chloroquine a été admise comme schéma thérapeutique type ;

c/: comme technique d'enquête préliminaire avant d'appliquer le traitement type de trois jours.

Toutes ces techniques ont été conçues pour l'emploi dans des conditions pratiques quoique l'épreuve prolongée présente souvent des difficultés sur le terrain. Elles donnent toutes une indication sur la réponse des souches locales de *P.falciparum* à la posologie de la chloroquine utilisée. En pratique il faudrait éliminer les diverses causes d'échec thérapeutique, qui pourraient faire croire à

tort à l'existence d'une résistance à la chloroquine dans une région donnée.

L'épreuve utilisée doit être évaluée par l'examen d'étalements de sang (goutte épaisse et frottis mince).

Sur le terrain, il n'est pas toujours possible d'exclure l'existence d'une transmission, et donc de distinguer une récruescence d'une réinfection. Pour cette raison, la détermination de la résistance de degré RII ou RIII est fondée sur la réponse de formes asexuées dans le sang pendant la première semaine du traitement. C'est uniquement dans les cas où la possibilité d'infections nouvelles est exclue que des observations poursuivies pendant trois semaines supplémentaires conduiront à des conclusions plus fermes quant à la récruescence de la parasitémie. Ceci permettrait ainsi à l'observateur de distinguer entre la sensibilité (S) et la résistance de type RI.

A. L'ÉPREUVE PRATIQUE DE DÉTERMINATION DE LA RÉPONSE À UN TRAITEMENT TYPE PAR LA CHLOROQUINE.

Cette épreuve pratique peut permettre de déterminer la réponse d'une souche de parasite du paludisme à une dose d'épreuve uniforme de 25mg/kg de chloroquine, administrée en trois jours à partir du jour 0. A la seule exception des personnes très malades, elle peut être pratiquée sur n'importe quel sujet, quels que soient son âge, sa numération parasitaire et les traitements suppressifs auxquels il a été précédemment soumis.

1) Mode opératoire pour l'épreuve pratique type et de l'épreuve prolongée.

Administrer chaque jour pendant trois jours une dose de chloroquine selon le schéma suivant :

- Jour 0 : première dose: 10mg/kg (600mg de la base pour un adulte de 60kg) ;
- Jour 1 : deuxième dose: 10mg/kg;
- Jour 2: troisième dose: 5mg/kg (300mg de la base pour un adulte de 60kg).

Prendre chaque fois les précautions nécessaires pour s'assurer que le sujet ingère et conserve le médicament. On évitera d'administrer le médicament à jeun pour réduire le plus possible le risque de nausées ou de vomissements. Si un sujet vomit il sera éliminé de l'épreuve. Si possible on inclura dans l'épreuve des sujets à numération parasitaire élevée. C'est à dire les jeunes enfants des régions de forte endémicité.

Les sujets soumis à l'épreuve seront examinés tous les jours pendant sept jours après le premier jour (jour 0) de l'administration du médicament. L'épreuve de sept jours ne permet pas souvent de distinguer la sensibilité (S) de la résistance au niveau RI, mais il est possible d'y parvenir en poursuivant l'observation pendant 21 jours supplémentaires : c'est l'épreuve pratique prolongée. Si possible, l'excrétion urinaire de la chloroquine sera déterminée grâce à une méthode appropriée (par exemple la méthode de Dill-Glazko). On recueillira de l'urine avant l'administration du médicament, le jour 0 ou la veille, et au moins une fois du jour 1 au jour 3 après le début du traitement.

2. L'INTERPRETATION DE L'EPEUVE PRATIQUE TYPE

DE L'O.M.S.(EPEUVE DE SEPT JOURS):

a. Si les parasites asexués ne sont pas décelés au jour 6 et qu'ils n'ont pas réapparu au jour 7, ils peuvent être soit sensibles (S) soit résistants au degré RI.

b. Si les parasites asexués disparaissent au moins pendant deux jours consécutifs, mais réapparaissent et sont retrouvés le jour 7, ils sont résistants au degré RI

c. Si les parasites asexués subsistent dans le sang, mais que leur nombre est réduit, durant les premières 48 heures du traitement à 25% ou moins du niveau initial avant l'épreuve. Ils sont résistants au degré RII.

d. Si le nombre de parasites asexués du sang est réduit de moins de 75% pendant les premières heures, ou s'il continue à s'élever, les parasites sont résistants au degré RIII à la dose uniforme du médicament.

3. L'INTERPRETATION DE L'EPREUVE PROLONGEE :

Cette épreuve permet de faire la distinction entre la sensibilité (S) et le degré de résistance RI qui ne peut être décelé que par l'apparition d'une récrudescence après une réponse initiale normale. Elle est interprétée comme suit :

a. Si les parasites asexués ont disparu le jour 6 et n'ont pas réapparu au jour 28, ils sont considérés comme sensibles (S).

b. Si les parasites asexués disparaissent comme en (a) mais réapparaissent dans les 28 jours, toute possibilité de réinfection étant exclue, ils sont résistants au degré RI.

c. Si les parasites asexués subsistent dans le sang mais que leur nombre est réduit, pendant les premières 48 heures du traitement, à 25% ou moins du nombre initial avant l'épreuve, ils sont résistants au degré RII.

d. Si le nombre de parasites asexués du sang est réduit à moins de 75% pendant les premières 48 heures ou s'il continue à croître, les parasites sont résistants au degré RIII.

LA VARIANTE DU TRAITEMENT PAR UNE DOSE UNIQUE:

Une autre épreuve, utilisant une dose unique de 10mg de chloroquine par kg de poids corporel, peut être employée au lieu du traitement de trois jours.

La période d'observation se limite à sept jours et l'épreuve est interprétée comme l'épreuve pratique type de l'O.M.S. Cependant, s'il n'y a pas de réponse dans les sept jours ou si l'on note une récrudescence de la parasitémie, on répétera l'épreuve en utilisant le schéma de trois jours.

5.4.2. EPREUVES IN VITRO POUR L'EVALUATION DE LA SENSIBILITE DE P.FALCIPARUM AUX AMINO-4 QUINOLEINES ET A LA MEFLOQUINE:

Les problèmes inhérents à la conduite des essais pratiques in vivo ont fait ressortir la nécessité d'une épreuve in vitro permettant d'évaluer la réponse de *P.falciparum* à des schizontocides divers. Une telle épreuve doit réduire les variations dues à l'immunité dans la réponse apparente au médicament et les difficultés pratiques que comporte le suivi des sujets à l'étude. Une épreuve de ce type a été mise au point sur le terrain par Rieckmann et al. en 1968 et le mode opératoire est le suivant :

1°) un échantillon de sang veineux est recueilli dans un simple vénotube siliconé, transféré immédiatement dans un Erlenmeyer stérile contenant des billes en verre. La défibrination mécanique se fait par rotation de l'Erlenmeyer pendant 5 minutes.

2°) A l'aide d'une pipette stérile de 1ml, on distribue des quantités de sang de 1ml dans les flacons de verre à bouchon vissé et fond plat, contenant du glucose (5mg) et (à l'exception d'un flacon témoin), le médicament en quantité croissante.

3°) On fait tourner doucement les flacons pour bien mélanger leur contenu. On les place ensuite dans un bain-marie à 38-40° pendant 24 heures.

4°) Après incubation, on agite les flacons pour remettre les cellules en suspension dans le plasma. Ensuite on prépare des étalements épais ou mince et on les colore pendant 20 minutes au Giemsa.

S'inspirant du système avec cloche à bougie utilisée dans la culture continue in vitro de *P.falciparum* (Trager et Jensen 1976), Rieckmann et al. ont décrit une microtechnique de détermination de la sensibilité de *P. falciparum* aux médicaments qui présente quelques avantages sur la macrotechnique.

5.4.2.1. MODE D'EMPLOI DE LA TECHNIQUE DE L'EPREUVE IN VITRO O.M.S. POUR L'EVALUATION DE REPONSE DE P. FALCIPARUM A LA CHLOROQUINE ET LA MEFLOQUINE (MACROTECHNIQUE).

A) Mode Opérateur (chloroquine):

-Critères d'inclusion dans l'étude:

* Absence de prise d'Amino-4 quinoléines au cours des 14 jours précédents, ou de pyriméthamine et/ou des sulfamides.

* Avoir une infection monospécifique à *P.falciparum* avec une parasitémie se situant entre 400P/microlitre et 100 000p/microlitre, déterminés sur frottis minces et ou gouttes épaisses.

Lorsqu'on observe des grosses formes annulaires de *P.falciparum*, on recueille le sang pour culture continue.

1°) Recueillir un échantillon de sang veineux d'au moins 8ml dans un simple vénotube siliconé ou dans une seringue stérile jetable.

2°) Transvaser immédiatement le sang du tube ou de la seringue dans un Erlenmeyer stérile de 25ml (bouché) contenant des billes de verre, et défibriner en imprimant une rotation à l'Erlenmeyer pendant 5mn. Si le sang ne peut pas être traité immédiatement, garder 3heures au maximum à la température ambiante avant l'incubation.

3°) A l'aide d'une pipette stérile de 1ml, placer des aliquotes de sang de 1ml dans les flacons d'épreuve à bouchon vissé et fond plat.

Les flacons sont pré-dosés : les témoins avec 5mg de glucose, et les flacons contenant de la chloroquine plus du glucose. Si l'on travaille sur plusieurs séries, il est à conseiller de coller des étiquettes sur les bouchons vissés et d'y inscrire le numéro du sujet.

4°) Faire tourner le sang dans les flacons pour bien mélanger le contenu et, placer les flacons sur un support par ordre de concentration croissante.

5°) Placer ensuite les flacons sur leur support dans un bain-marie ou une étuve sèche à 38°C pendant 24 heures.

6°) Après incubation, agiter les flacons pour remettre les cellules en suspension dans le plasma.

7°) Préparer des étalements épais (2 par concentration) et les colorer pendant 20 minutes au moyen d'une solution saline de Giemsa (3ml de solution de Giemsa dilués avec 60ml de solution de NaCl à 9g/l et 37ml d'eau tamponnée au phosphate de PH 6,7.

8°) Calculer alors la parasitémie comme suite :

TÉMOINS			ÉCHANTILLONS CONTENANT DE LA CHLOROQUINE	
Nombre de schizontes (c'est à dire de parasites ayant plus de deux noyaux) pour 300 leucocytes incubation			Nombre de schizontes pour 300 leucocytes après incubation (z)	% de schizontes par rapport aux échantillons témoins (témoins 100%) (a)
Témoin 1	Témoin 2	Moyenne (m)	z	$a = \frac{z \times 100}{m}$
x	y	$m = \frac{x+y}{2}$	64	$\frac{64 \times 100}{320} = 20\%$
300	340	320		

9°) consigner les résultats sur la fiche de notification dans la partie réservée au produit concerné. Un graphique peut être utilisé pour faciliter l'analyse des résultats.

10°) A condition que la croissance obtenue sur les échantillons témoins soit suffisante pour que l'on obtienne des résultats concluants pour l'ensemble de l'épreuve et que l'on ait à faire qu'au seul *P.falciparum*, on pourra tirer les conclusions suivantes :

a. l'inhibition complète de la maturation des schizontes dans les flacons contenant 1,00 nmol de chloroquine ou moins ($1,00 \times 10^{-6}$ mol/l) témoigne d'une sensibilité au traitement standard par la chloroquine.

b. La maturation des schizontes dans les flacons contenant 1,50 nmol de chloroquine ou plus ($1,50 \times 10^{-6}$ mol/l) indique qu'il y a une résistance de *P.falciparum* à la chloroquine.

c. Lorsqu'il y a maturation des schizontes avec 1,00 nmol, mais inhibition avec 1,50 nmol de chloroquine, une réponse satisfaisante à la chloroquine reste possible.

N.B. : L'épreuve in vitro n'est pas destinée à remplacer la détermination in vivo de la réaction au traitement par la chloroquine mais, associée à cette dernière, elle peut fournir de précieuses indications sur la sensibilité du parasite et en permettre la surveillance.

B. EPREUVE DE SENSIBILITE DU PLASMODIUM A LA MEFLOQUINE:

Pour l'évaluation in vitro de la sensibilité de *P.falciparum* à la méfloquine, on a mis au point un nécessaire spécial d'épreuve destiné à être utilisé en association avec le matériel de l'épreuve de la détermination de la réponse à la chloroquine.

MODE OPERATOIRE :

Le mode opératoire est le même que pour les épreuves à la chloroquine. Les flacons sont dosés dans l'ordre suivant:

2 flacons témoins:

Méfloquine	nmol	0,50
"		1,00
"		0,75
"		0,25
"		1,50
"		2,00

Les résultats seront calculés et consignés comme pour la chloroquine, mais il semble que le niveau critique de résistance se situe à 2 nmol (2×10^{-6} mol/l).

Le godet A représente le témoin, les godets B-H représentent une série de concentration d'Amodiaquine avec la progression géométrique suivante : 2^{-4} , 2^0 , 2^1 , 2^2 et 2^3 pmol, avec des concentrations intermédiaires de $2^{2,5}$ (godet F) et 2^3 (godet H).

B) MODE OPERATOIRE :

- Critères d'inclusion dans l'étude :

* Absence de prise d' amino-4 quinoléines au cours des 14 jours précédents, ou de pyriméthamine et/ou de sulfamides au cours des 28 jours précédents.

* Recherche de chloroquine et d'amodiaquine et s'il y a lieu, de sulfamides, négative dans les urines.

* Avoir une infection monospécifique à *P.falciparum* avec au moins une parasitémie à 500 formes asexuées par microlitre de sang.

Une fois le malade choisi, procéder comme suit:

a) Oter le bouchon de la fiole réceptrice stérile (environ 5ml).

b) Introduire 0,9ml de milieu de culture au moyen d'une seringue à tuberculine stérile dans la fiole réceptrice vide.

c) Prélever 100 microlitres de sang à l'extrémité du doigt ou au lobe de l'oreille (ou au gros orteil chez le nourrisson) au moyen d'un capillaire stérile avec anticoagulant, et transvaser dans la fiole contenant le milieu de croissance. Fermer la fiole au moyen d'un bouchon stérile et agiter doucement pour mettre les cellules sanguines en suspension.

d) Retirer la feuille de plastique scellant les colonnes voulues des plaques à la chloroquine et à l'amodiaquine.

e) Mettre dans tous les godets contenant la chloroquine et l'amodiaquine 50 microlitres de mélange sang/milieu, au moyen d'une pipette Ependof munie d'un embout stérile. On changera d'embout chaque fois que l'on commencera une nouvelle série de concentration pour éviter d'introduire du médicament dans les godets témoins. Tout en versant le mélange sang/milieu, agiter doucement ce dernier pour maintenir les cellules sanguines en suspension.

f) Placer le couvercle sur la plaque et inscrire le numéro du malade sur le couvercle au moyen d'un crayon gras.

g) Une fois introduit le mélange sang/milieu, remuer doucement la plaque de culture pendant quelques secondes pour dissoudre le médicament déposé dans les godets

h) Déposer la plaque de culture dans un récipient étanche à l'air (de préférence un dessiccateur avec une bougie de parafine (on n'utilisera que des bougies de parafine pure). Une fois la bougie allumée, remettre le couvercle en ne laissant qu'une petite ouverture et fermer complètement le couvercle juste avant que la flamme ne s'éteigne. Si l'on utilise des dessiccateurs avec couvercle à robinet, on pourra fermer le couvercle en laissant le robinet en position ouverte, et en le refermant au moment où la flamme va s'éteindre. Mettre le récipient étanche à l'air dans une étuve à 37-38°C et l'y laisser pendant 24 heures à 26 heures selon l'état de croissance des formes annulaires dans l'étalement.

L'usage d'un bain-marie hermétiquement clos a également donné des résultats très satisfaisants.

i) Après incubation, préparer deux étalements épais à partir du contenu de chaque godet, après avoir enlevé la plus grande quantité possible du surnageant au moyen d'un capillaire ordinaire équipé de la poire fournie dans le nécessaire d'épreuve.

j) Colorer les étalements épais pendant 30 minutes au Giemsa (solution à 2% du tampon phosphate de PH 7,1).

k) Procéder à la numération des schizontes pour 200 parasites asexués, et calculer les résultats comme suit :

TEMOINS			ECHANTILLONS AVEC CHLOROQUINE OU AMODIAQUINE	
Nombre de schizontes (c'est à dire des parasites ayant plus 2 noyaux) pour 200 parasites après incubation moins(a) (100%)			Nombre de schizontes pour 200 parasites après incubation(z)	% de schizontes par rapport aux échantillons témoins
Témoin 1	Témoin 2	Moyenne		
plaque de chloroq.	plaque de amodiaq.	(m)		
ne k1	k2	$m = \frac{k1+k2}{2}$	z	$a = \frac{z}{m} \times 100$
par exp				
96	100	98	49	$\frac{49}{98} \times 100 = 50\%$

Les résultats concernant chaque médicament sont enregistrés sur la fiche correspondante ou transcrits sur un graphique.

m) Si la croissance obtenue avec les échantillons témoins est suffisante, et si l'on n'a affaire qu'à des parasites de l'espèce *P.falciparum*, on peut tirer les conclusions suivantes; dans le cas où les échantillons contiennent moins de 90 000 parasites par microlitre :

- L'inhibition complète de la croissance à 4,00 pmol de chloroquine ou d'amodiaquine par godet témoigne d'une sensibilité au traitement standard à la chloroquine ou à l'amodiaquine.

- Une croissance à 5,7 pmol ou plus par godet indique qu'il y a résistance de *P.falciparum* à la chloroquine ou à l'amodiaquine.

- Lorsqu'il y a croissance à 4,00 pmol mais inhibition à 5,7 pmol, une réponse satisfaisante au médicament testé reste possible.

N.B : Le microtest in vitro n'est pas destiné à remplacer la mesure in vivo de la réaction au traitement par la chloroquine. Cependant, c'est un moyen utile de surveillance de la chimiosensibilité des souches plasmodiales et une méthode commode de détection précoce d'une pharmacorésistance.

5.4.3. EPREUVES DE RECHERCHE DES ANTIPALUDIQUES DANS LES LIQUIDES BIOLOGIQUES:

1) CHLOROQUINE :

Brodie et ses collaborateurs (1947) (10) ont mis au point une technique d'extraction double pour la recherche de la chloroquine dans les liquides biologiques. Nous signalons seulement cette technique sans la décrire en détail, car elle est d'application difficile sur le terrain.

Des épreuves simples utilisables sur le terrain pour la mise en évidence de la chloroquine dans les urines ont été aussi décrites.

A. Epreuve de WILSON et EDESON (1954) :

Réactifs:

Chlorure mercurique (HgCl ₂)-----	6,75g
Iodure de potassium (KI)-----	25,0g
Eau distillée -----	500ml

Mode opératoire :

1°) Dissoudre HgCl₂ dans 375ml d'eau distillée et KI dans 100ml d'eau distillée. Verser la première la solution dans la seconde, en agitant le récipient, et compléter à 500ml. Cette solution est appelée réactif de Mayer-Tanret.

2°) Ajouter quelques gouttes de ce réactif à 5ml d'urine froide dans un tube à essais (si l'échantillon est mis au réfrigérateur pendant 30 minutes avant l'épreuve, celle-ci est plus sensible).

3°) Apparition d'une turbidité blanchâtre qui disparaît par chauffage et réapparaît au refroidissement indique la présence de chloroquine dans l'échantillon. Une augmentation de la turbidité lors du chauffage peut dénoter la présence d'albumine.

4°) Si l'on soupçonne la présence d'albumine, faire bouillir et filtrer l'urine, puis la laisser refroidir au réfrigérateur avant d'ajouter le réactif de Mayer-TANRET(10).

Cette épreuve donne un résultat positif dans les 12 heures qui suivent l'administration par voie orale d'une dose unique de 10mg/kg de chloroquine-base et elle demeure positive chez la plupart des sujets pendant 5 à 6 jours. Elle indique une teneur urinaire de 0,4 à 1mg par 100ml d'urines au plus. Parmi les autres médicaments qui peuvent donner une réaction faussement positive lors de cette épreuve figurent la quinine, la primaquine, la codeïne, l'éphédrine et la péthidine.

B. EPREUVE DE LELIJVELD ET KORTMANN (1970).

Cette épreuve dérive d'une méthode (non publiée) conçue par W.A. DILL et A.J. GLAZKO pour la recherche de l'amodiaquine. Elle reste également valable pour la recherche de cette substance(chloroquine).

Réactifs :

Poudre d'éosine-----	50 mg
Chloroforme de qualité pour réactif--	100 ml
Acide chlorhydrique HCl-----	1 ml

Mode opératoire

1°) Ajouter 50mg d'éosine à 100ml de chloroforme et à 1ml de HCL (1mol/l) dans une ampoule à décantation à bouchon émeri.

2°) Agiter doucement pendant quelques minutes jusqu'à ce que le chloroforme prenne une teinte jaune clair.

3°) Séparer le chloroforme et conserver dans un flacon sec en verre brun à bouchon émeri.

4°) Ajouter 10 gouttes de la solution de chloroforme à 2ml d'urine dans un tube à essais et agiter énergiquement pendant quelques instants.

5°) La présence de chloroquine dans l'urine est indiquée par un changement de la couleur de la couche de chloroforme précipitée, qui passe du jaune pâle au rouge violet.

Cette méthode donne un résultat positif même après l'administration à l'adulte d'une dose aussi faible que 150mg de chloroquine base, et elle peut être utilisée pour des urines qui restent troubles après ébullition et filtration. A des doses de 5mg de chloroquine base par kg de poids corporel, elle n'est fiable que jusqu'à 48 heures après l'administration du médicament.

C. Epreuve de HASKIN:Réactifs :

- solution d'hydroxyde de sodium NaOH (100g/l) ;
- Chloroforme ou dichlorométhane purifié ;
- Solution de méthylorange (préparée en faisant dissoudre 0,1g de méthylorange de qualité pour indicateur coloré dans 100ml dans une solution borique à 5%). Agiter le mélange pendant quelques heures ou pendant toute la nuit puis filtrer. Le filtrat limpide est utilisé comme réactif. S'il se forme un précipité, on peut l'éliminer par filtration sans perte d'efficacité. Ce réactif demeure stable pendant quelques semaines.

Mode opératoire :

1°) Verser 1ml de la solution d'hydroxyde de sodium et 5ml de chloroforme dans un tube à essais contenant 5ml d'urine.

2°) boucher le tube et agiter pendant 1 minute. Laisser les couches se séparer (une centrifugation est parfois nécessaire).

3°) Prélever à la pipette le surnageant et transférer le chloroforme avec précaution dans un tube propre.

4°) Ajouter au chloroforme 0,5ml de la solution de méthylorange, boucher le tube et agiter pendant 20 secondes, laisser les couches se séparer.

On perçoit une réaction dès que l'urine contient 0,2mg de chloroquine par 100ml. Une teneur de 0,5mg par 100ml donne une teinte nettement jaune et avec 1,0mg par 100ml on obtient un jaune intense. Cette épreuve donne un résultat positif dans les 4 à 5 heures qui suivent l'administration d'une dose unique de 300 mg de chloroquine base. Elle demeure positive pendant 4 à 5 jours. L'intensité diminue lentement jusqu'au dixième jour, où on ne peut plus distinguer le résultat de celui que donne l'épreuve à blanc.

II) AMODIAQUINE:

La méthode fluorimétrique de TRENHOLME et ses collaborateurs (1974) permet de mesurer l'amodiaquine dans les liquides biologiques.

Réactifs :

Dichlo-1,2 éthane purifié pour usage fluorimétrique par lavages successifs à l'hydroxyde de soude NaOH (1mol/l), à l'acide chlorhydrique HCL (1mol/l) et à l'eau distillée ;

Un tampon borate contenant six parties de NaOH (0,6mol/l) et cinq parties d'acide borique (0,6mol/l) dans le KCL(0,6mol/l) ;

Solution de phosphate diphasique (500g) ;

HCL (0,1mol/l) ;

Chlorhydrate d'amodiaquine à 2 molécules d'eau, pur pour la préparation de la solution étalon.

Mode opératoire :

1°) Pour l'analyse du serum, recueillir le sang sans anticoagulant ; pour la détermination de la teneur érythrocytaire, utiliser des tubes contenant de l'oxalate de sodium.

2°) Centrifuger le total, éliminer le plasma et la couenne et diluer le culot érythrocytaire avec de l'eau distillée à volume égal pour faciliter la manipulation.

3°) Placer 2ml de serum (simple ou oxalaté) ou d'érythrocytes dilués dans un tube conique de 15ml à bouchon émeri.

4°) Ajouter 0,2ml de solution de phosphate dipotassique (K_2HPO_4).

5°) Ajouter 10ml de dichloro-1,2 éthane et agiter mécaniquement pendant 30 minutes à la température ambiante.

6°) Centrifuger à 1500 tours par minute pendant 10 minutes à la température ambiante.

7°) Jeter la couche supérieure (plasma) et toute la matière semi-solide pouvant se former au-dessus de la couche inférieure de dichloroéthane.

8°) Transférer 8ml de la couche de dichloro-1,2 éthane dans un tube conique propre de 15ml contenant 3ml de HCL (0,1mol/l). Agiter à la température ambiante pendant 15 minutes.

9°) Laisser les phases liquides se séparer puis transférer 2ml de la phase acide supérieure dans un tube à essais contenant 1ml de tampon borate (le PH du mélange obtenu doit être 9,5).

10°) Boucher, mais non hermétiquement avec un bouchon en verre ou en marbre, puis mettre au bain-marie bouillant pendant 30 minutes.

11°) Rétirer du bain-marie et laisser reposer à la température ambiante pendant 20 minutes.

12°) Transférer 2ml dans une cuve en quartz et mesurer la fluorescence d'émission dans un spectrofluorimètre approprié à 390 nm en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 250 nm.

13°) Tracer les courbes étalons après avoir ajouté des quantités connues d'amodiaquine à des échantillons de serum ou d'érythrocytes. La limite inférieure de linéarité pour ces couches se situe autour de 50 microgramme par litre (on ignore la nature des dérivés fluorescents) d'amodiaquine produits par chauffage dans une solution alcaline pendant l'exécution de cette épreuve .

III) TECHNIQUES DE RECHERCHE DES AUTRES ANTIPALUDIQUES:

Les autres antipaludiques ne faisant pas l'objet de notre étude, nous ne citerons que leurs techniques de recherche dans les liquides biologiques sans les détailler.

1°) Quinine:

On peut déceler la quinine dans les urines en utilisant le réactif de Mayer-Tanret (cf chloroquine) ou dans le plasma.

La méthode de recherche de la quinine dans le plasma ou dans l'urine a été décrite par HALL et al. (1973). Ces auteurs se sont eux-mêmes inspirés de la technique d'extraction par le benzène de Brodie et al. (1947). Elle dose la quinine proprement dite mais non ses métabolites.

2°) Mépacrine

Il est recommandé d'utiliser la méthode d'extraction simple de Brodie et al. (1947) pour le dosage de la mépacrine dans les liquides biologiques. Une variante de cette épreuve s'est révélée utile pour la recherche de la mépacrine dans les urines.

3°) Proguanil

GAGE et ROSE (1946) ont mis au point une épreuve simple pour la recherche du proguanil dans l'urine .

4°) Pyriméthamine

Aux posologies recommandées, les concentrations dans le plasma et l'urine sont très faibles et leur détection exige l'emploi d'un matériel d'analyse spécialisé. JONES et KING (1968) ont indiqué une méthode qualitative relativement simple pour la mise en évidence dans l'urine par chromatographie en couche mince, mais la chromatographie en phase gazeuse ou en phase liquide à haute pression est requise pour l'analyse quantitative (JONES et Ovenell, 1979). La méthode de titrage

biologique décrite par Richard et Maples (1979) est particulièrement utile puisqu'elle permet de mesurer directement le degré d'activité de la pyriméthamine contre les stades asexués de *P.falciparum*

5°) Primaquine

En raison de la rapidité d'élimination et des faibles quantités administrées, la détermination des concentrations de primaquine dans le plasma a nécessité des méthodes de laboratoire complexes, par exemple la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse. Ces méthodes ne sont applicables que dans des laboratoires de recherche spécialisés.

6°) Sulfamides:

La concentration de sulfamides libres ou acétylés dans l'urine ou le plasma peut être déterminée selon la technique de BRATTON-MARSHAL (1939).

7°) Sulfones

La méthode décrite par GLAZKO et ses collaborateurs (1968) permet de mesurer des quantités de dapsons de l'ordre de quelques microgrammes dans le plasma ou l'urine.

6. EVOLUTION DE LA CHIMIOSENSIBILITE DE P. FALCIPARUM AU MALI DE 1985 A 1990:

Le paludisme constitue au Mali un problème de santé publique. Au Mali, aucune étude locale n'a prouvé de 1985 à 1990 l'existence de souches de P.falciparum chloroquino-résistantes dans la population autochtone. Cependant des rumeurs faisant état d'une chimio-résistance ne cessent de circuler, créant la psychose jusque dans le monde médical. Des cas isolés décrits dans des populations sentinelles(expatriés) ayant séjourné au Mali entretiennent ces rumeurs.

Depuis 1985 des études de chimiosensibilité ont été effectuées au Mali :

- En octobre 1985, un travail a été réalisé à Sélingué, une zone de barrage au sud du Mali(49). L'objectif principal de cette enquête était de vérifier l'efficacité schizontocide de la chloroquine conditionnée localement par l'UMPP, donc la sensibilité des souches locales de P. falciparum. Le screening a concerné 259 élèves âgés de 7 à 14 ans. L'absorption de la chloroquine était testée dans les urines des patients aux jour 0, jour 1 et jour 3 par le test de Dill et GLAZKO. Chaque enfant recevait 25mg de chloroquine par kg de poids corporel repartis comme suit :

- Jour 0 (j0) : 10mg/kgp en prise unique
- Jour 1 (j1); 10mg/kgp en prise unique
- Jour 2 (j2): 5mg/kgp en prise unique

Parmi les 259 élèves examinés, seuls 43 repondaient pleinement aux critères d'inclusion avec une parasitémie de 1000 à 20 000 (formes asexuées de P.falciparum) par mm³. Leur parasitémie a été suivie pendant 7 jours en effectuant des étalements minces et épais.

Cette étude a montré un sous-dosage de la chloroquine malienne, qui ne contenait que 65% du principe de base actif. Malgré ce sous dosage, une disparition totale de toute forme asexuée de P.falciparum dans le sang périphérique au jour 4 (j4) du traitement a été observée. Donc il y avait une bonne sensibilité des souches de P.falciparum.

- En 1986, une étude de sensibilité de *P.falciparum* à la chloroquine a été menée par l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.) à Baguineda (50). Cette étude était un test initial pour la mise en place d'une surveillance régulière de la sensibilité menée par une équipe nationale. Elle avait pour objectif opérationnel d'évaluer la sensibilité des souches locales de *P.falciparum* à la chloroquine en vue de son utilisation comme arme curative du paludisme.

L'étude a été réalisée en novembre 1986, période de forte transmission à l'école fondamentale de Baguineda qui comptait environ 700 élèves. Les tests standards O.M.S. in vivo et in vitro (micro-test) avaient été adoptés.

Pour le test in vivo l'épreuve de 7 jours était utilisée. La chloroquine utilisée est de fabrication allemande: Diphosphate de chloroquine (Rosochin) Bayer-275404-RZ-13034.

Sur 340 élèves âgés de 7 à 14 ans examinés, seuls 52 ont été retenus pour l'épreuve sur les critères suivants:

- avoir une parasitémie supérieure ou égale à 1000 parasites asexués par mm³ de sang .

- un test d'urine de DILL-GLAZKO négatif à J-1.

La chloroquine a été administrée pendant 3 jours selon le protocole suivant:

J0 (1er jour) : 10mg/kgp en une seule prise ;

J1 (2eme jour) : 10mg/kgp en une seule prise ;

J2 (3ème jour) : 5mg/kgp en une seule prise ;

L'absorption de la dose de chloroquine administrée est vérifiée dans les urines par le test de DILL-GLAZKO à j1, j2, j3.

L'observation parasitologique est faite pendant 7 jours.

Pour le test in vitro le micro-test a été adopté pour réaliser cette étude. Les kits nécessaires pour le test (3kits A et 3kits B) ont été envoyés par l'O.M.S. depuis les Philippines au Mali. Le mode opératoire fourni par l'O.M.S. a été employé: le prélèvement de 100microlitres de sang capillaire par enfant prélevé sur tube capillaire hépariné, était transvasé dans un tube stérile contenant 900 microlitres

de milieu de culture (RPMI 1640+Hepès+Bicarbonate) distribué à 50 microlitres par godet (protocole O.M.S. MarkII pour mode d'emploi des kits Micro-test). Sur 208 élèves examinés, seuls 77 reponaient aux critères d'inclusion qui sont :

- une parasitémie de 500 trophozoïtes/mm³ et plus;
- des formes "ring" pour une culture de 24 heures devant les amener au stade de schizontes à plusieurs noyaux.

Le prélèvement de sang effectué sur le terrain à Baguineda était transporté à Bamako pour la mise en culture au laboratoire de parasitologie de l'I.N.R.S.P. Ainsi, sur les 77 micro-tests réalisés, 23 ont montré un développement satisfaisant de schizontes après 24 heures à l'étude à 37°C. Les résultats de cette étude ont été les suivants :

Pour le test in vivo: (parasitémie négative par jour de test):

j1=0 cas (négatif)

j2= 36 cas négatifs

j3= 52 cas négatifs

Aucune parasitémie décelable à j6 et j7 . La parasitémie la plus élevée au jour 0 était de 23 400 parasites asexués par mm³.

Le délai moyen de négativation de la parasitémie était de 3 jours.

Pour le test in vitro (micro-test):

* Sur les 23 souches ayant montré un développement de schizontes, l'inhibition est intervenue avant la concentration de 4p.mol dans 82,6% des cas (soit 19/23 souches).

*La croissance des schizontes est devenue nulle au delà des 4 p.mol.

*Les concentrations 8,16,32 p.mol ont été lues et retrouvées négatives dans tous les cas.

En conclusion cette enquête a montré que les souches locales de P. falciparum testées à Baguineda (zone méso-endémique) sont sensibles à la dose de 25mg/kg en 3 jours de chloroquine. Les souches locales de P. falciparum sont aussi sensibles par le test in vivo que par le test in vitro.

- En 1987: Dans le cadre de l'exécution des activités d'un projet de recherche conjointement financé par l'O.M.S./TDR et la C.E.E. l'équipe du Centre de Référence de la Chimiorésistance du paludisme (C.R.C.P.) du Centre Muraz, a effectué une mission du 16 Novembre au 5 Décembre 1987 à Bamako au Mali (57). Cette mission avait pour objectifs de :

- former l'équipe nationale malienne aux méthodes et techniques de surveillance de la chimiosensibilité palustre par un transfert de technologie ;
- évaluer le niveau de sensibilité des souches de *P.falciparum* à la chloroquine et à la méfloquine à Bamako.

Pour cette étude de la chimiosensibilité, trois localités riveraines du fleuve Niger, toutes situées en commune VI de Bamako ont servi de cadre d'étude. Ce sont:

- Missabougou, localité péri-urbaine avec 4 183 habitants ;
- Magnambougou, localité sub-urbaine de 15.028 habitants ;
- et Sénou, localité plus éloignée du fleuve et de la ville, à environ 15km, peuplée de 3.424 habitants.

Ces trois localités sont situées en zone de savane soudano-sahélienne, où le paludisme est endémique à récrudescence saisonnière. L'étude a été conduite en période de faible transmission.

Pour les besoins des tests couplés *in vivo/in vitro* qui ont été effectués, les sujets âgés de 1 à 9 ans ont été retenus en fonction des critères d'inclusion suivants :

- avoir une infection monospécifique à *P.falciparum* avec une densité parasitaire supérieure ou égale à 1000 globules rouges parasités par microlitre de sang ;
- avoir une recherche de chloroquine négative dans les urines ;
- être en bonne santé clinique apparente ;

Pour le test *in vivo* l'épreuve de 7 jours selon le protocole O.M.S. a été utilisée. Chaque sujet retenu a été traité *per os* à la chloroquine (Nivaquine® SPECIA) à la dose de 25mg/kg de poids corporel en 3 jours.

Pour l'étude *in vitro* la technique du microtest O.M.S. a été appliquée pour mesurer le niveau de sensibilité de *P.falciparum* simultanément à la chloroquine et à la méfloquine.

Resultats de ces tests:

Au total 1012 enfants âgés de 1 à 9 ans ont été examinés, parmi lesquels 170 (16,8%) ont été trouvés porteurs de plasmodies.

- Pour le test *in vivo* : sur 70 sujets inclus dans l'étude à J0, 52 se sont présentés à tous les contrôles (J2, J4, J7). Leur chloroquinurie était négative à J0 et positive à J7.

Aucun des 52 enfants ayant terminé l'étude n'hébergeait des parasites à J4 et à J7 après l'administration du médicament.

- Pour le test *in vitro*: Parmi 70 sujets inclus à J0, 38 ont fait aussi l'objet d'une étude *in vitro* parallèlement à la chloroquine et à la méfloquine. En tout 26 tests à la chloroquine et 27 à la méfloquine étaient interprétables.

Toutes les souches de *P.falciparum* ont été inhibées à 5,7 p.mol/godet de chloroquine (seuil critique de la résistance). Déjà à 2p.mol/godet 76,9% des souches étaient inhibées et 96% à 4 p.mol.

Des 27 isolats testés à la méfloquine, 8 clones (29,6%) continuèrent leur développement en schizontes à la dose seuil de 4p.mol/godet et au delà. Il a été obtenu seulement 25,9% et 70% des souches inhibées respectivement à 2p.mol/godet et 4p.mol/godet.

En conclusion :

D'une manière générale, la réponse *in vivo* et *in vitro* de *P.falciparum* à la chloroquine dans la région de Bamako était très satisfaisante. Par contre à la méfloquine il existait un taux assez important (29,6%) d'isolats résistants *in vitro*.

- De 1986 à 1990 le Centre National de Référence de la chimiosensibilité du paludisme (France) a décrit des cas isolés de chloroquino-résistance en provenance de divers pays, notamment africains dont le Mali. Les sujets étaient en majorité des européens voyageurs ou expatriés, vivant en zones d'endémie, soit rapatriés sanitaires en France, soit présentant une fièvre au retour en France (65%). Les

autres sujets (35%) sont des africains vivant en France ayant séjourné dans leur pays d'origine ou ayant visité un autre pays d'Afrique. Parmi les sujets examinés 97% se seraient contaminés en Afrique(65).

Tableau III : L'évolution de la résistance à la chloroquine de 1986 à 1989 des souches de *P.falciparum*, importées du Mali en France.

PAYS	1986			1987			1988			1989		
	Nbre de cas	Echec in vivo	Résist in vitro	Nbre de cas	Echec in vivo	Résist in vitro	Nbre de cas	Echec in vivo	Résist in vitro	Nbre de cas	Echec in vivo	Résist in vitro
MALI	9	0/3	0/4	11	1/4	0/4	15	4/9	4/10	23	7/9	6/15

Ce tableau montre bien l'émergence de souches Maliennes chloroquino-résistantes depuis 1987 avec une augmentation en 1989 dans la population sentinelle. En effet 6 souches sur 15 testées in vitro en 1989 se sont montrées résistantes au produit, et 7 cas d'échec in vivo sur 9 cas étudiés ont été décelés.

Ainsi la nécessité de préciser la situation actuelle dans la population autochtone du niveau de prévalence de la chimiosensibilité des souches maliennes par des études de terrain, est devenue une priorité de recherche appliquée.

7. LE TRAVAIL DE TERRAIN :

7.1. LE LIEU D'ETUDE :

Notre étude a été effectuée dans une zone rurale malienne, le village de SAFO situé à 15km au Nord-Est du quartier Bankoni de la capitale Bamako. Il se situe en zone Nord soudanienne, sur le plateau Manding. Il constitue le chef lieu d'un secteur de développement de 18 villages de l'arrondissement de Kalabankoro, cercle de Kati.

Le village de Safo serait issu de l'extension du Royaume Bambara de Ségou. Il a été créé, il y a environ deux siècles pour des raisons agro-pastorales et de chasse.

7.1.1. BIOGEOGRAPHIE :

Le relief:

Il est essentiellement constitué par le Dienfa-koulou, le kouloudjan, et le Torodokoulouni qui sont des prolongements du plateau Manding. Du point de vue géologique des cuirasses ferrugineuses couvrent souvent les terrains. Des formations meubles contiennent des gravillons ferrugineux et présentent par endroits des traces d'embourbement de véhicules qui constituent de véritables gîtes larvaires pour les Culicidae.

La végétation:

Elle est de type savane arborée avec un tapis herbacé. Cette végétation subit une certaine désertification liée à l'exploitation abusive du bois, à l'élevage des caprins et au déficit pluviométrique de ces dernières années.

La faune :

Jadis riche, elle se trouve aujourd'hui très appauvrie par la chasse intensive. On y rencontre quelques rares espèces: lièvres, chats sauvages, singes, phacochères, perdrix, pintades sauvages.

Le climat:

Le climat est de type nord soudanien caractérisé par l'alternance de deux grandes saisons:

*Une saison pluvieuse qui va du mois de mai au mois d'octobre avec le maximum de pluies en août-septembre. C'est la période de transmission intense du paludisme.

*Une saison sèche qui est:

.Fraîche de novembre à janvier et

.Chaude de février à mai avec une température maximale observée au mois de mai.

L'hydrographie:

Le village de SAFO est essentiellement arrosé par trois cours d'eau temporaires, grossis pendant la saison pluvieuse par les eaux de ruissellement des collines. Ce sont le TRONO, le NIAMADOKO et le N'GOLONOGONI.

7.1.2. LES DONNEES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES :

La population du village de SAFO est évaluée à 1500 habitants répartis entre 4 quartiers: Sidoni, Koko, Bougoudacourani, et Bougoucoro avec un petit secteur libre des enseignants. Elle est composée essentiellement de bambara autochtones(90%), de malinkés (6%) et d'une minorité de peulhs et de sarakolés.

Les taux d'alphabétisation et de scolarisation sont faibles.

Cette population de SAFO est essentiellement animisme, mais il existe des familles chrétiennes et une minorité de familles musulmanes.

L'habitat comprend trois types de constructions:

- des cases rondes avec toit de chaume conique ;
- des cases rondes ou rectangulaires avec toit en terrasse ;
- des maisons rectangulaires avec toit de tôle qui sont rares.

Les murs de ces constructions en banco présentent des fentes de retrait qui sont d'excellents lieux de repos pour les moustiques, ainsi que les toits de chaume et de terrasse.

7.1.3. ACTIVITES ECONOMIQUES

La population de Safo est rurale à 100%. Les principales activités économiques sont l'agriculture et l'élevage. On rencontre trois groupes de cultures:

- Cultures vivrières : mil, arachide, riz, sorgho, maïs, manioc, servant de nourriture aux habitants. Seuls les excédents sont commercialisés.

- Cultures maraichères : Elles constituent une source de revenu très importante à cause de la proximité de Bamako où ses produits sont vendus. Ce sont notamment: les aubergines, les tomates, le gombo, les choux, les oignons et les épices.

- Cultures fruitières: Il existe quelques vergers de manguiers et de citronniers. On rencontre également dans les jardins des papayers, des bananiers, des goyaviers.

A côté de ces cultures les produits de cueillette occupent une place importante dans les activités économiques à Safo.

L'élevage est une activité pratiquée surtout par la minorité peulh. On rencontre surtout les ovins, les bovins, les caprins et de la volaille.

7.1.4. LES INFRASTRUCTURES :

Le village de SAFO est doté d'infrastructures scolaire et sanitaire:

a) Infrastructure scolaire:

C'est une école fondamentale créée en 1960. Elle compte 6 classes de 150 élèves. Les activités pédagogiques sont assurées par trois enseignants, avec un système d'enseignement à double vacation. Le taux de scolarisation est d'environ 20% d'enfants scolarisables. L'école de SAFO est la seule école pour les 18 villages du secteur de développement.

b) Infrastructure sanitaire:

Le village de SAFO est doté d'un dispensaire créé en 1967, qui constitue le chef-poste médical des 18 villages du secteur de développement. Ce centre est dirigé par un infirmier du premier cycle assisté d'un aide-soignant.

Le centre de santé est également doté d'une maternité créée en 1977. Elle est tenue par une matrone rurale, qui assure les activités de santé maternelle et

infantile (S.M.I.)

7.1.5. LA SITUATION SANITAIRE :

Depuis 1989 nous menons à SAFO une surveillance clinique régulière d'une part, et une surveillance parasitologique et immunologique du paludisme d'autre part.

Le paludisme reste hyperendémique à SAFO avec une transmission saisonnière d'au moins 4 mois. L'indice plasmodique varie de 59% à 55,2% (53). La prévalence du paludisme est de 68%, suivi par l'onchocercose, les bilharzioses et d'autres helminthiases intestinales. Les gastro-entérites constituent une importante cause de mortalité infantile. Les épidémies (rougeole, méningite) surviennent presque toutes les deux années. La fréquence du tétanos néonatal, jadis liée aux accouchements non contrôlés tend à baisser grâce à la fréquentation de la maternité. De 1989 à nos jours nous avons enregistré et suivi 7 cas d'épilepsie. 58 cas de lèpre sont suivis par le centre de santé. Il existe quelques cas de Dracunculose chaque année. Des cas isolés de malnutrition infantile ont été suivis et d'hypertension artérielle.

7.1.6. STOCK ET MODE D'USAGE DES ANTIPALUDIQUES A SAFO

A SAFO il existe un dépôt pharmaceutique ou pharmacie villageoise créée en 1984 à l'initiative des villageois avec l'aide de notre laboratoire. Il est géré par un autochtone du village et qui, à partir d'un bon de commande par l'infirmier chef de poste du dispensaire, se ravitaille à la pharmacie du quartier populaire de Banconi à Bamako.

L'usage des sels de quinine est plus courant (Quinimax®), prescrits par l'infirmier chef de poste ou son aide-soignant. La posologie utilisée est généralement de 400mg par jour chez l'adulte pendant 3 jours et 200 mg par jour chez l'enfant. La chloroquine, seul antipaludéen oral rencontré, est peu prescrite par l'infirmier, et la dose quotidienne est en général de 300mg pendant 3 à 4 jours chez l'adulte. L'autoconsommation, de la chloroquine dépasse rarement 2 comprimés (200mg) par jour en une prise même chez l'adulte.

Il existe quelques étalagistes sédentaires ou ambulants, vendant de la chloroquine sur la place du marché de SAFO. Cependant leur taux de vente est assez faible et varie en fonction de la période de transmission du paludisme. Cette faiblesse de vente s'explique par le niveau de l'automédication très bas à Safo. Les accès palustres à Safo sont pris en charge systématiquement par notre équipe depuis 1989.

7.1.7. LES ANTECEDENTS D'ETUDE A SAFO

Le village de SAFO est en étroite collaboration avec le Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires depuis 1985. Ainsi de 1985 à nos jours il a été successivement le lieu d'étude des travaux suivants :

1°) Test de la phase IIIb de l'efficacité du chlorhydrate d'halofantrine en 2 prises journalières (26) ;

2°) Le contrôle de l'efficacité gamétocytoïde et de la tolérance du chlorhydrate d'halofantrine (17) ;

3°) contrôle de l'efficacité schizontocide du chlorhydrate d'halofantrine par rapport à un groupe témoin recevant la chloroquine (24) ;

4°) Contribution à l'étude des anticorps naturels anti-p190: antigène majeur de la surface du mérozoïte de *Plasmodium falciparum* (Welch 1897) (53).

Safo est donc un village très sollicité par notre équipe pour nos activités de recherche sur le paludisme.

7.2. NOTRE METHODOLOGIE

7.2.1. PERIODE D'ETUDE

Notre étude a été conduite dans le village de SAFO du mois de mai 1989 au mois mai 1991. Le travail sur la chloroquinorésistance a été effectué du mois de mars au mois de mai 1991. Cette période est une période de très faible transmission palustre dans cette zone, mais la schizogonie érythrocytaire résiduelle est importante. Nous ne présenterons ici que les résultats de l'étude de la chimiosensibilité.

7.2.2. MATERIELS ET REACTIFS

- Lames porte-objet 76x26 lavées et dégraissées à l'acide chlorhydrique dilué au 1/10 avec l'alcool éthylique.

- Lancettes stériles à usage unique ;

- Boîte de collection de lames porte-objet de type O.M.S. ;

- Coton ;

- Alcool à 90° ;

- Colorant Giemsa de marque Diagnostica Merk ;

- Méthanol ;

- comprimés tampon (Buffer tabletten PH 7,2 Merk:1 comprimé pour 1litre d'eau distillée.

- Eosine

- Chloroforme

- Acide chlorhydrique 1N

- Huile d'immersion

- sachets de plastic pour prélèvement d'urines

- Tubes en verre de 5ml

- Cônes pour micropipette

- Micropipettes de 100 et 1000 microlitres

- Microscope binoculaire

- Portoirs

- Bacs de coloration pour 100 lames

- Eprouvettes graduées en polyéthylène de 100cc, 500cc, 1litre

- Minuterie

- Ratelier

- Papier PH (indicateur de PH 5-10 Merk)

- Balance de précision

7.2.3. ECHANTILLONNAGE

Nous avons effectué l'étude sur les élèves de l'école de SAFO d'une part, en procédant à un dépistage systématique des 150 élèves inscrits, et d'autre part dans la population infantile du village, en examinant 200 sujets ~~ans~~. Les sujets retenus pour le test *in vivo* ont été sélectionnés en fonction des critères suivants :

- densité parasitaire: le seuil d'inclusion parasitologique a été fixé à 1000 trophozoïtes par mm³ de sang (formes asexuées);
- infection monospécifique à *P.falciparum*;
- recherche de chloroquinurie négative au test de DILL et GLAZKO.
- absence de prise d'autres antipaludiques sur la base de l'interrogatoire ainsi que certains antibiotiques parasitocides ou parasitostatiques tels les tétracyclines);
- sujets en bonne santé clinique apparente.

Ainsi parmi les 38 élèves parasités par *P.falciparum*, 11 répondaient pleinement à nos critères de sélection, tous âgés de 7 à 12 ans. Dans la population générale 20 enfants âgés de 4 à 10 ans ont satisfait à nos critères d'inclusion. Donc notre étude a été réalisée sur un échantillon de 31 enfants validés sur un total de 350 testés.

7.2.4. PERSONNEL

Il comprenait une équipe de parasitologie et une équipe d'entomologie.

- L'équipe de parasitologie (qui a réalisé le test) comprenait :
 - un médecin- parasitologiste,
 - deux pharmaciens-biologistes,
 - un thésard en médecine.
- L'équipe d'entomologie se composait de :
 - deux entomologistes,
 - un biologiste,
 - 16 captureurs villageois.

7.2.4. LES TECHNIQUES DE RECHERCHE

A- Goutte épaisse:

***Prélèvement :** A l'aide d'un coton imbibé d'alcool on aseptise la pulpe du troisième doigt de la main gauche et on y pratique une ponction capillaire avec une lancette stérile. Avec un coton sec on écarte la première goutte de sang, puis on presse le doigt et, une seconde goutte plus importante (20microlitres environ) est déposée au beau milieu d'une lame porte- objet dégraissée. Avec l'angle d'une autre lame un mouvement circulaire est effectué dans la goutte de sang en raclant la surface de la lame. La goutte est ainsi étendue en une zone d'environ 1,5 cm de diamètre, par un mouvement en spirale entraînant la défibrination mécanique totale. La lame ainsi préparée portant le numéro d'identification de l'unité statistique examinée doit être placée à l'abri des mouches, de la poussière et des rayons solaires, dans une boîte de collection type O.M.S. jusqu'à séchage complet.

***Coloration :**

Les lames de goutte épaisse ont été colorées au Giemsa 3% en un temps pendant 45 minutes.

La solution de colorant à 3% de Giemsa assure une déshémoglobination totale de la goutte de sang avant la coloration des éléments parasitaires.

La coloration proprement dite à été faite comme suit :

1*) Déposer les lames dans le bac de coloration dos contre ventre pour éviter toute éventuelle contamination;

2*) Verser soigneusement la solution de Giemsa 3% jusqu'à immersion totale des lames et attendre 45 minutes;

3*) Rincer soigneusement les lames à l'eau tamponnée et les placer sur le ratelier pour séchage à la température du laboratoire à l'abri de la poussière et des mouches.

B. Frottis mince :

- Effectuer séparément une goutte épaisse et un frottis mince, à partir de la même ponction capillaire digitale sur chaque enfant;
- déposer à l'une des extrémités d'une lame porte-objet une goutte de sang (moins importante que celle destinée à faire la goutte épaisse);
- étaler cette goutte par un mouvement régulier et rapide vers l'extrémité libre de la lame porte-objet à l'aide d'une autre lame inclinée à 45° au contact de la goutte de sang ;
- laisser la lame sécher à l'abri des mouches et de la poussière dans la boîte de collection.

Avant la coloration les frottis sont marqués au crayon noir puis fixés au méthanol. Cette coloration est identique à celle des gouttes épaisses.

C. Lecture des frottis et des gouttes épaisses :

Elle permettait de répondre à la question: le prélèvement contient-il des plasmodium, de quelle(s) espèce(s) et combien? Elle s'est faite au microscope optique binoculaire au grossissement 600 (objectif 100, oculaire 6x) à l'immersion. La parasitémie a été évaluée suivant la méthode leucocytaire quantitative. La lecture microscopique s'effectue sur 300 leucocytes, puis le résultat est rapporté à 7500 leucocytes considérés comme la leucocytose moyenne (Payne D.)

D. TECHNIQUE DE DEPISTAGE DE LA CHLOROQUINURIE: TEST DE DILL**ET GLAZKO :****1*) Composition du réactif:**

Dans une étude antérieurement faite sur le chlorhydrate d'halofantrine comparé à la chloroquine (24), il a été signalé que le test de DILL et GLAZKO devenait plus sensible si on augmentait la concentration d'éosine dans la solution. Ainsi nous avons modifié cette solution et l'avons préparée avec la composition suivante :

- Eosine----- 100mg
- Chloroforme----- 100ml
- Acide chlorhydrique,HCL 1N----- 1ml

2°) Préparation:

- Peser 100mg d'éosine (balance de précision) et le mettre dans un mortier en verre ;
- Mesurer exactement 100ml de chloroforme (éprouvette graduée) et 1ml de HCL 1N (Gilsonpipetman P.1000) et les verser dans le mortier en triturant avec le pilon en verre.
- Filtrer.

On obtient une solution jaune qui constitue le réactif, qu'on met dans un flacon en verre pour le stockage (fermer hermétiquement)

3°) Mode opératoire

- Récolter les urines dans un sachet plastic neuf propre ;
- Prélever avec une pipette Gilson, 1000 microlitres d'urines dans un tube de verre ;
- Y ajouter 100 microlitres de solution réactif (Gilson 100).

Il se forme un précipité rouge au fond du tube visible à l'oeil nu si toute fois le sujet a ingéré de la chloroquine au cours des 7jours précédants, voire des 14 jours précédants.

E. LES TECHNIQUES ENTOMOLOGIQUES:**1°) Captures nocturnes:**

Elles ont permis de déterminer :

- l'agressivité anophélienne,
- l'indice sporozoïtique,
- l'âge physiologique,
- le cycle gonotrophique.

Deux séances de capture nocture par quartier avec 4 captureurs dont 2 à l'intérieur et 2 à l'extérieur ont été réalisées.

Les moustiques vecteurs capturés sont recuillis par tranche de 2 heures et disséqués afin d'établir l'indice sporozoïtique et l'âge physiologique.

2°) Spray catch, complémentaire au premier, avait pour but de déterminer:

- la densité anophélienne par case,
- l'agressivité anophélienne,
- l'indice sporozoïtique,
- l'identification cytogénétique.

Deux séances de capture ont été effectuées dans chaque quartier avec 10 cases par séance. L'insecticide utilisé est un pyretrénoïde (timor).

Les anophèles capturés ont été tous disséqués pour déterminer l'indice sporozoïtique. Les abdomens des semi-gravides ont été fixés isolément et conservés pour l'identification cytogénétique.

F. LA TECHNIQUE D'ÉVALUATION IN VIVO DE LA RÉPONSE DE

P. FALCIPARUM LA CHLOROQUINE:

Nous avons adopté pour notre étude l'épreuve pratique type l'O.M.S. mais avec une période d'observation parasitologique portée à 28 jours. Elle consiste à administrer 25 mg de chloroquine-base par kg de poids corporel en 3 jours, avec une période d'observation parasitologique de 28 jours.

- MODE OPÉRATOIRE

Nous avons administré chaque jour pendant 3 jours une dose de 25mg de chloroquine-base aux 31 enfants sélectionnés pour le test, selon le schéma suivant:

Jour 0 : - première dose de 10 mg/kg de poids corporel en prise unique,

- goutte épaisse et frottis mince,

- prélèvement d'urines pour recherche de la chloroquinurie.

Jour 1 : - deuxième dose de 10 mg/kg de poids corporel en une seule prise

- prélèvement d'urines pour recherche de chloroquinurie.

Jour 2 : - troisième dose de 5 mg/kg de poids corporel en prise unique

- prélèvement d'urines pour recherche de chloroquinurie.

Jour 3 : - goutte épaisse + frottis mince + prélèvement d'urines. chaque sujet.

Jour 7 : - goutte épaisse + frottis pour chaque sujet

- prélèvement d'urines pour test de DILL et GLAZKO.

Jour 14 : -goutte épaisse et frottis

-prélèvement des urines pour analyse .

Jour 21 : -confection de goutte épaisse et de frottis pour tous les sujets,

-récotte des urines pour recherche de la chloroquinurie

Jour 28 : -confection de goutte épaisse et de frottis

-recueil des urines et analyse .

-LE MEDICAMENT: ET SON MODE D'UTILISATION.

Le médicament utilisé est de la chloroquine dosée à 100mg de base. Les comprimés sont sécables, de marque Phamamed Ltd fournis par l'O.M.S.

Les comprimés sont administrés par voie orale aux enfants, la prise effective se faisant devant le personnel, après le prélèvement de sang et des urines .

Nous prenons la précaution de garder les enfants en observation pendant 45 minutes pour pouvoir déceler d'éventuels vomissements.

8. NOS RESULTATS

8.1. RESULTATS ENTOMOLOGIQUES

8.1.1. CAPTURE NOCTURNE SUR APPAT HUMAIN (Tableau 4)

. Le nombre de piqûres par homme et par nuit était de 0,093.

. L'indice sporozoïtique global était nul.

. Le taux d'inoculation entomologique était aussi nul.

8.1.2. SPRAY-CATCH (Tableau 5)

. La densité anophélienne par case variait de 0,05 à 0,15. La densité anophélienne moyenne était de 0,07.

. Le nombre de piqûres par homme par nuit était de 0,009.

. L'indice sporozoïtique était nul, tous les moustiques vecteurs capturés ont été systématiquement dissequés

. L'indice sporozoïtique étant nul, le taux d'inoculation entomologique était alors nul.

Conclusion: Il n'existait donc pas de transmission paludéenne à SAFO durant cette période d'étude.

Tableau IV: Nombre de piqûres par homme et par nuit à SAFO: capture nocturne (mars 1991)

QUARTIERS	ANOPHELES GAMBIAE SL		
	Nombre de captureurs	Total Gambiae sl.	Nombre de piqûres homme par nuit
Noumouna	8 (4x2)	1	0,125
Sidonl	8	1	0,125
Koko	8	0	0,000
Bougoudacour	8	1	0,125
Total	32	3	0,093

Tableau V : Densité anophélienne et nombre de piqûres par homme et par nuit à Safo : au spray catch en mars 1991.

QUARTIERS	ANOPHELES GAMBIAE SL.				
	Nombre de cases	Nombre de dormeurs	Total gambiæ	Densité par case	Nombre de piqûres par homme par nuit
Noumouna	20	60	3	0,15	0,00
Sidoni	20	53	1	0,05	0,00
Koko	20	52	1	0,05	0,01
Bougoudacoura	20	42	1	0,05	0,02
Total	80	207	6	0,07	0,09

Ces résultats entomologiques nous ^{permettent} donc de valider les résultats de l'épreuve prolongée de 28 jours du test in vivo à la chloroquine.

8.2. LES RESULTATS DU TEST DE DILL ET GLAZKO

La chloroquinurie a été recherchée chez 64 personnes qui ont été soumises au test in vivo à la chloroquine aux jours suivants: jour 0, jour 1, jour 2, jour 3, jour 7, jour 14, jour 21 et jour 28.

Au premier jour tous les sujets testés avaient une chloroquinurie négative. Au deuxième jour du test trois sujets avaient toujours une chloroquinurie négative bien qu'ayant pris leur dose de 10mg/kg de chloroquine sous notre surveillance. La chloroquine a été retrouvée dans les urines des 61 autres sujets. A j2 une seule personne ne présentait pas de test de DILL et GLAZKO positif, et ce sujet a toujours eu une chloroquinurie négative à tous les contrôles durant tout le test. Cependant il ingérait chaque fois sa dose de chloroquine devant le personnel d'enquête et ne la vomissait pas à la maison.

Du troisième jour au huitième jour 59 sujets présentaient une chloroquinurie positive au test de DILL-GLAZKO.

A j14 nous avons cinq sujets qui excrétaient toujours de la chloroquine. A J21, 2 sujets étaient encore positifs et un seul positif à j28 (Tableau n°6).

Tableau VI : Evolution de la chloroquinurie par le test de DILL-GLAZKO de j0 à j28 chez les 31 sujets validés:

	J0	J1	J2	J3	J7	J14	J21	J28
Nombre de ces positifs	0	29	31	30	27	3	0	0
pourcentage de ces positifs	0	93,54	100	96,77	87,09	9,67	0	0

Au septième jour après le début du traitement 87,09% des sujets éliminaient encore de la chloroquine dans les urines. Au quatorzième jour nous avons 9,67% de sujets inclus dans le protocole qui présentaient une chloroquinurie.

8.3. RESULTATS PARASITOLOGIQUES : (Test in vivo)

8.3.1. RESULTATS GLOBAUX:

Au total 350 sujets ont été examinés pour le dépistage, dont 200 personnes de la population générale du village et 150 élèves de l'école rurale de SAFO.

119 sujets ont été trouvés porteurs de formes asexuées de *P.falciparum*, soit 34% des sujets examinés. Parmi ces sujets présentant un paludisme-infection on notait 38 élèves (soit 10,85% des sujets examinés) et 81 personnes de la population générale (soit 23,14% de l'effectif soumis au dépistage. Parmi ces 81 sujets du village seuls les sujets âgés de 4 à 10 ans^{ont} été retenus pour le test, au nombre de 26 enfants.

Ainsi 64 sujets au total ont été soumis au test in vivo à la chloroquine à 25mg/kg pendant 3 jours (38 élèves âgés de 7 à 12 ans et 26 enfants du village âgés de 4 à 10 ans). Certains ont été exclus pour les raisons suivantes :

- Trois enfants ont été exclus pour une évolution grave de leur infection et ont été traités à la quinine injectable (QUINIMAX®).

- 30 sujets avaient une parasitémie inférieure à 1000 formes asexuées par mm³ de sang à j0 et n'ont pas été retenus dans le test.

Ainsi 31 cas au total ont été validés pour tester la sensibilité de *P.falciparum* à la dose de 25mg/kg de poids corporel durant 3 jours, avec une période d'observation parasitologique de 28 jours.

Nous avons calculé l'indice splénique chez 122 enfants du village âgés de 2 à 12 ans. 32 enfants portaient une splénomégalie allant du stade I au stade IV selon la classification de HACKETT (1). Ceci nous donnait un indice splénique de 26,22%.

L'indice gamétocytaire, déterminé chez les 200 sujets de la population générale (âgés de 2 à 9 ans) était de 5,5%, soit 11 porteurs de gamétocytes.

L'indice plasmodique était de 34% (119/350).

La prise de la température axillaire, faite au jour 0 chez les 122 enfants du village nous a donné une température moyenne de 37°C. Les sujets fébriles représentent 8,13%.

La réponse des souches de *P.falciparum* de cette localité nous est donnée par le tableau n°7.

Tableau VII : Réponse des souches locales de *P.falciparum* au schéma standard de 25mg/kg de chloroquine-base pendant 3 jours.

	Sensible	RI	RII	RIII	Total
Effectif	22	7	2	0	31
Pourcentage	70,97	22,58	6,45	0	100

8.3.2. LES RESULTATS DESCRIPTIFS ET ANALYTIQUES

Sur un effectif initial de 350 sujets, 119 étaient porteurs d'une infection à *P.falciparum*. Parmi ces derniers le test in vivo a été appliqué à 64, dont 31 cas ont été définitivement validés.

La densité parasitaire moyenne des 31 sujets au jour 0 était de 3802 ^{Trophozoïtes} (trophozoïtes) de *P.falciparum* par mm³ de sang. Au jour 3, cette moyenne passait à 41 formes asexuées détectables par mm³ de sang, puis à 161 à j7, 423 à j14, 898 à j21 et à 288 à j28 (Tableau n°9)

Au quatrième jour du traitement nous avons obtenu une réduction de la densité parasitaire moyenne de 98,93% par rapport à la densité parasitaire initiale. Au huitième jour du début du traitement, ce taux de réduction était de 95,77% de la densité parasitaire moyenne.

TABLEAU 8 : Evolution de la chloroquinurie de J0 à J28
(Test de Dill-Glazko) chez les 31 sujets retenus

N°d'iden- tification	Age (ans)	Sexe	J0	J1	J2	J3	J7	J14	J21	J28
12.03	5 ans	M	-	+	+	+	+	-	-	-
27.17	8	M	-	-	+	+	-	-	-	-
02.10	5	M	-	+	+	+	+	-	-	-
02.56	4	M	-	+	+	+	+	-	-	-
25.05	9	F	-	+	+	-	-	-	-	-
09.44	8	F	-	+	+	+	+	-	-	-
24.02	6	F	-	+	+	+	-	-	-	-
02.52	10	F	-	+	+	+	+	-	-	-
21.02	8	M	-	+	+	+	+	-	-	-
21.03	4	M	-	+	+	+	+	+	-	-
08.03	4	M	-	+	+	+	+	-	-	-
10.11	6	F	-	+	+	+	+	-	-	-
10.19	4	M	-	+	+	+	+	-	-	-
26.04	10	F	-	+	+	+	-	-	-	-
10.12 (B)	5	M	-	+	+	+	+	-	-	-
10.06	6	M	-	+	+	+	+	-	-	-
27.08	7	F	-	+	+	+	+	-	-	-
A.01	8	M	-	+	+	+	+	-	-	-
A.04	7	M	-	+	+	+	+	-	-	-
A.05	10	M	-	+	+	+	+	-	-	-
A.21	8	M	-	+	+	+	+	-	-	-
B.07	10	M	-	+	+	+	+	-	-	-
B.09	9	M	-	+	+	+	+	-	-	-
B.15	9	M	-	+	+	+	+	-	-	-
B.26	11	M	-	+	+	+	+	-	-	-
C.16	11	M	-	+	+	+	+	+	-	-
C.26	11	M	-	-	+	+	+	-	-	-
18.02	9	F	-	+	+	+	+	-	-	-
18.04	8	M	-	+	+	+	+	+	-	-
F.05	12	M	-	+	+	+	+	-	-	-
02.44	9	F	-	+	+	+	+	-	-	-
TOTAL			31 -	29 +	31 +	30 +	27 +	3 +	0 +	0 +

TABLEAU 9 : Evolution globale de la parasitémie de J0 à J28
(TF/mm³)

N°d'identification	Age (ans)	Sexe	J0	J3	J7	J14	J21	J28
12.03	5	M	1950	0	0	950	2100	0
27.17	8	M	1575	0	0	0	0	0
02.10	5	M	1590	225	200	150	1375	775
02.56	4	M	1300	0	0	0	50	400
25.05	9	F	2125	0	0	0	0	0
09.44	8	F	2200	0	0	0	0	0
24.02	6	F	14250	0	0	11000	0	0
02.52	10	F	1100	0	0	150	0	0
21.02	8	M	2550	0	0	0	75	0
21.03	4	M	8700	1050	4700	350	2410	925
08.03	4	M	3525	0	0	0	0	0
18.02	9	F	1275	0	0	0	0	0
10.11	6	F	6050	0	0	0	0	0
10.19	4	M	3950	0	100	0	2700	125
26.04	10	F	2550	0	0	0	0	0
10.12(B)	5	M	4900	0	0	0	125	0
10.06	6	M	8175	0	0	0	0	200
27.08	7	F	2025	0	0	0	0	0
A.01	8	M	6000	0	0	300	0	5375
A.04	7	M	1725	0	0	0	0	0
A.05	10	M	10950	0	0	0	0	0
A.21	8	M	2600	0	0	0	0	300
B.07	10	M	1725	0	0	0	17400	0
B.09	9	M	3575	0	0	0	0	0
B.15	9	M	1650	0	0	0	0	0
B.26	11	M	1550	0	0	0	0	0
C.16	11	M	3525	0	0	0	0	0
C.26	11	M	1125	0	0	0	0	0
18.05	8	M	8700	0	0	0	0	0
F.05	12	M	3900	0	0	0	0	50
02.44	9	F	1050	0	0	200	1625	775
Moyenne arithmétique			3802	41	161	423	898	288

Cette évolution de la densité parasitaire qui ne s'est annulée en aucun moment au cours du test, notamment entre j0 et j7; nous donne un niveau de résistance RII des souches de *P.falciparum* testées à SAFO (si on considère l'allure globale de la courbe d'évolution des parasitemies moyennes: courbe n°1).

Tableau X : Evolution du nombre de sujets présentant une parasitémie détectable de j0 à j28 :

	J0	J3	J7	J14	J21	J28
Nombre de cas positifs	31	2	3	7	9	9
Pourcentage de cas positifs	100	6,45	9,67	22,58	29,03	29,03

La courbe représentative du pourcentage de sujets ayant une parasitémie détectable de j0 à j28 nous donne, tout comme la précédente, l'allure d'une résistance RII (voir courbe n°2). Il y a une persistance de la parasitémie à tous les contrôles parasitologiques effectués entre j0 et j28.

Tableau XI : Taux de réduction du portage de *P.falciparum* après traitement à 25mg/kg de chloroquine

	J0	J3	J7	J14	J21	J28
Nombre de cas négatifs	0	29	28	24	22	22
Pourcentage de cas négatifs	0	93,55	90,33	77,42	70,97	70,97

Au quatrième jour du traitement à la chloroquine, nous avons eu un taux de réduction du portage de *P.falciparum* de 93,55%. Ce taux baisse progressivement de j3 à j21. En effet il passe à 90,33% à j7 et se trouve à 70,97% à j21 et j28. Ceci montre une récruescence de l'infection après le traitement (voir courbe n°3).

ANALYSE DETAILLEE DE CERTAINS CAS DE RESISTANCE

SUJET N°0210: (5 ans)

Tableau XII : Evolution de la parasitémie après traitement de j0 à j28 du sujet n°0210:

	J0	J3	J7	J14	J21	J28
Densité parasitaire	1590	225	200	150	1375	775
Indice de densité	5	3	3	2	5	4

Nous constatons une persistance de la parasitémie malgré le traitement. Au huitième jour (j7), il avait une réduction de la parasitémie initiale de 87,44%, puis de 90,57% à j14. Mais le contrôle de la parasitémie à j21 montre une forte récrudescence, atteignant les 86,47% de la parasitémie initiale (j0).

Il s'agit là d'une résistance de niveau RII (voir courbe n°4).

SUJET N° 21.03:(4 ans)

Tableau XIII : Evolution de la densité parasitaire du cas n°21.03 de j0 à j28.

	J0	J3	J7	J14	J21	J28
Densité Parasitaire	8700	1050	4700	350	2410	925
Indice de densité parasitaire	8	5	7	3	6	5

Nous avons obtenu chez ce malade:

- à j3 une réduction de 87,94% de la parasitémie de j0.
- à j7 une réduction de 45,98% de la parasitémie de départ, donc une récrudescence .

Là aussi on observe une résistance de niveau RII (voir courbe n°5).

SUJET N° 10.19: (4ANS)**Tableau XIV** : Evolution de la densité parasitaire du sujet n° 10.19 durant la période de suivi.

	J0	J3	J7	J14	J21	J28
Densité Parasitaire	3950	0	100	0	2700	125
Indice de densité parasitaire	7		2		6	2

La parasitémie s'annule au troisième jour mais réapparaît au septième jour . Ceci nous donne une résistance de type RI précoce. (voir courbe n°6).

SUJET N° 12.03: (5 ANS)**Tableau XV** : Evolution de la parasitémie pendant et après traitement.

	J0	J3	J7	J14	J21	J28
Densité Parasitaire	1950	0	0	950	2100	0
Indice de densité parasitaire	6			5	6	

Les contrôles de la parasitémie à j3 et j7 sont négatifs . Mais on observe une forte récrudescence à j14 et j21.

C'est une résistance de type RI tardif (voir courbe n° 7).

Les cas n° 24.02 (6 ans), n° 02.52 (10 ans), n° A01 (8 ans), et n° 02.44 (9ans) présentaient la même évolution après traitement que le sujet précédent (n° 12.03). Ainsi nous observons cinq cas de résistance de type RI tardif, soit 16,12% des cas.

Au total nous avons observé :

- 6,45% des sujets validés qui ont présenté une chloroquino- résistance de type RII (2 cas);

- 7 cas de résistance de type RI, soit 22,58% de l'effectif (dont 1 cas de RI précoce et 6 cas de RI tardive).

Ainsi 9 sujets sur 31 présentaient une parasitémie détectable entre J3 et j21, soit 29,03% de cas de chloroquino-résistance.

Signalons enfin qu'à partir du quatorzième 4 quatre sujets négatifs à J7, ont présenté une parasitémie détectable.

Fig 1 : Evolution globale de la densité parasitaire de J0 à J28

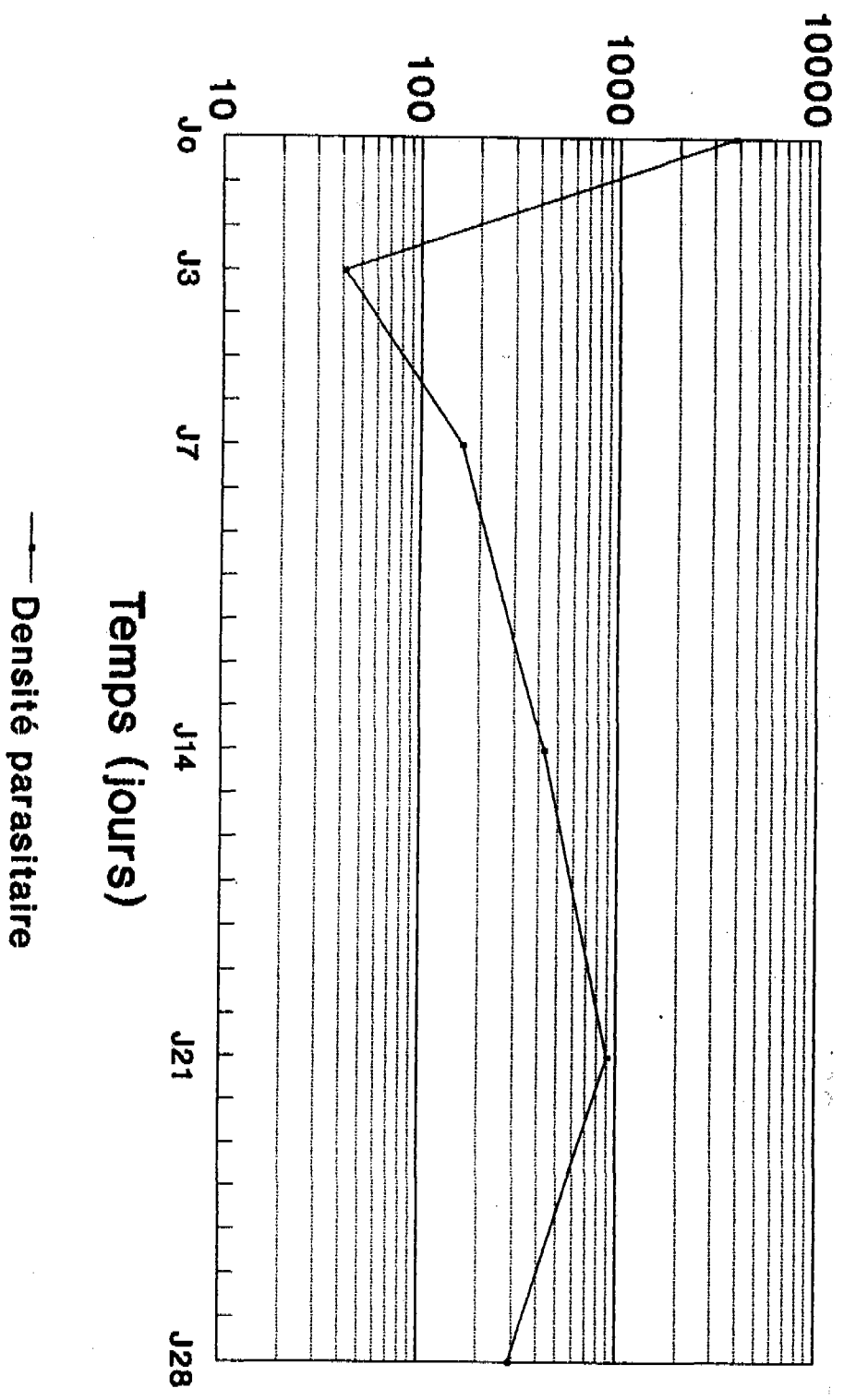


Fig. 2: Pourcentage de sujets présentant une parasitémie détectable de J0 à J28

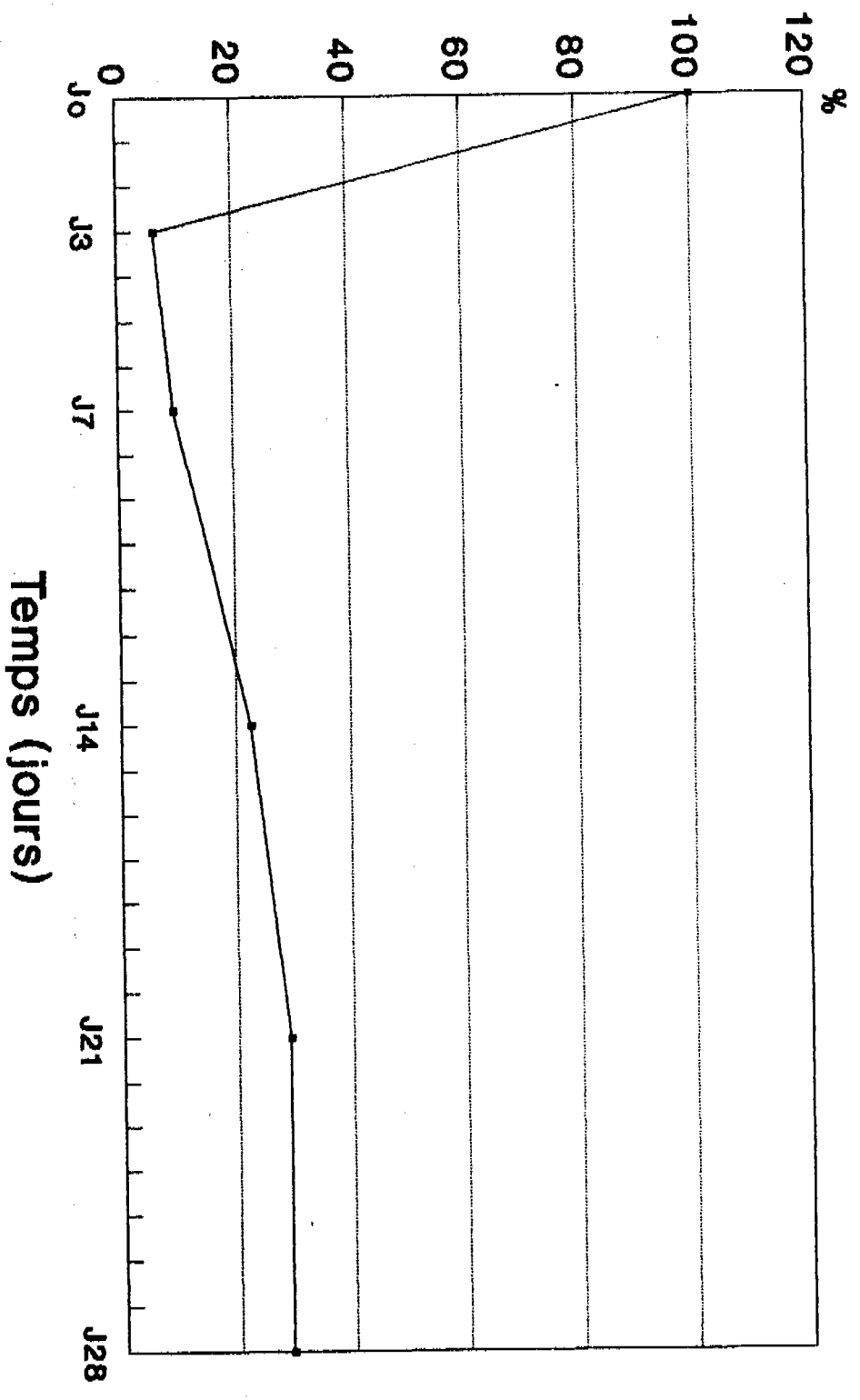


Fig 4 :

Evolution de la parasitémie après traitement

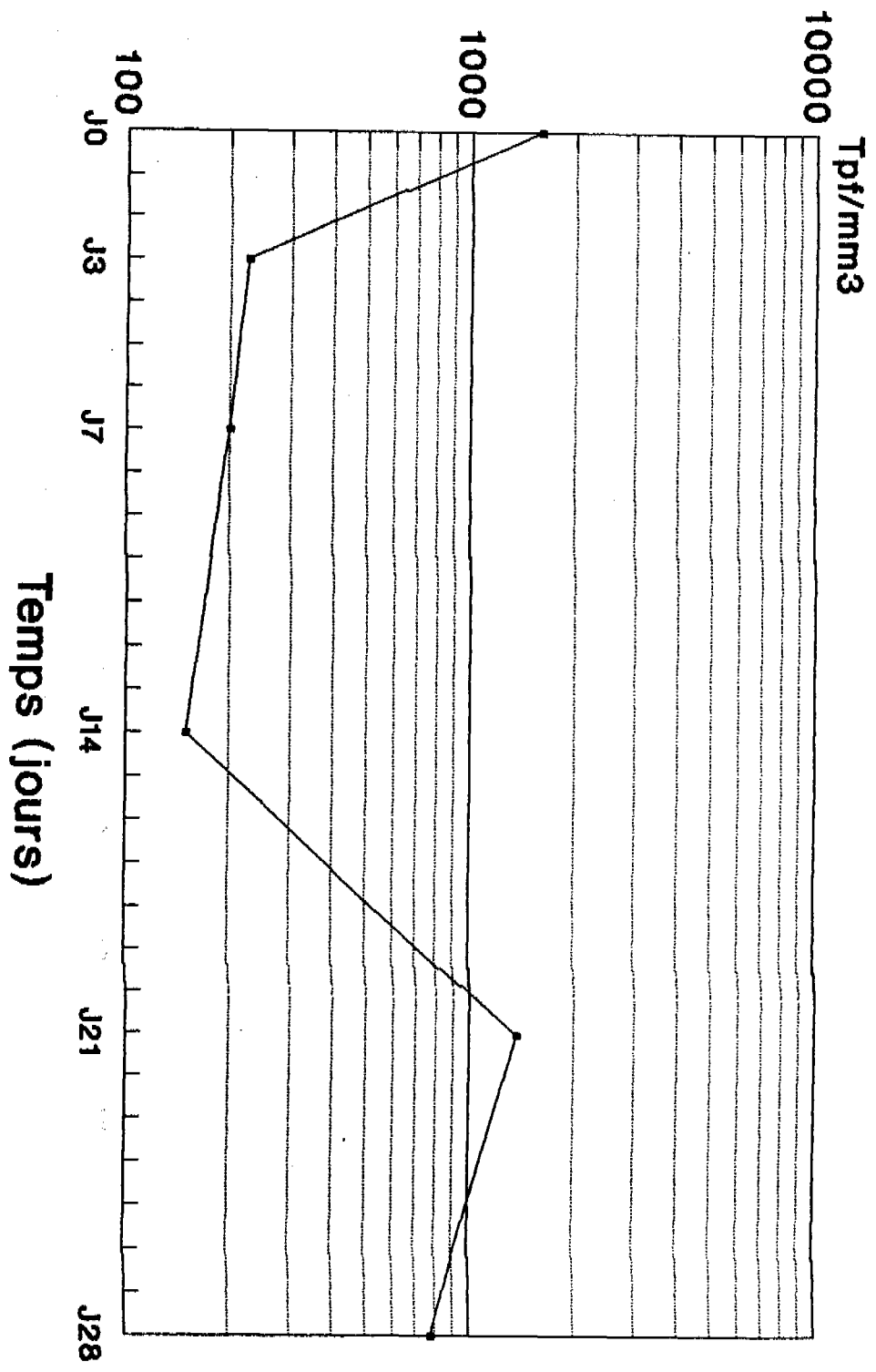


Fig 5 :

Evolution de la parasitémie après traitement

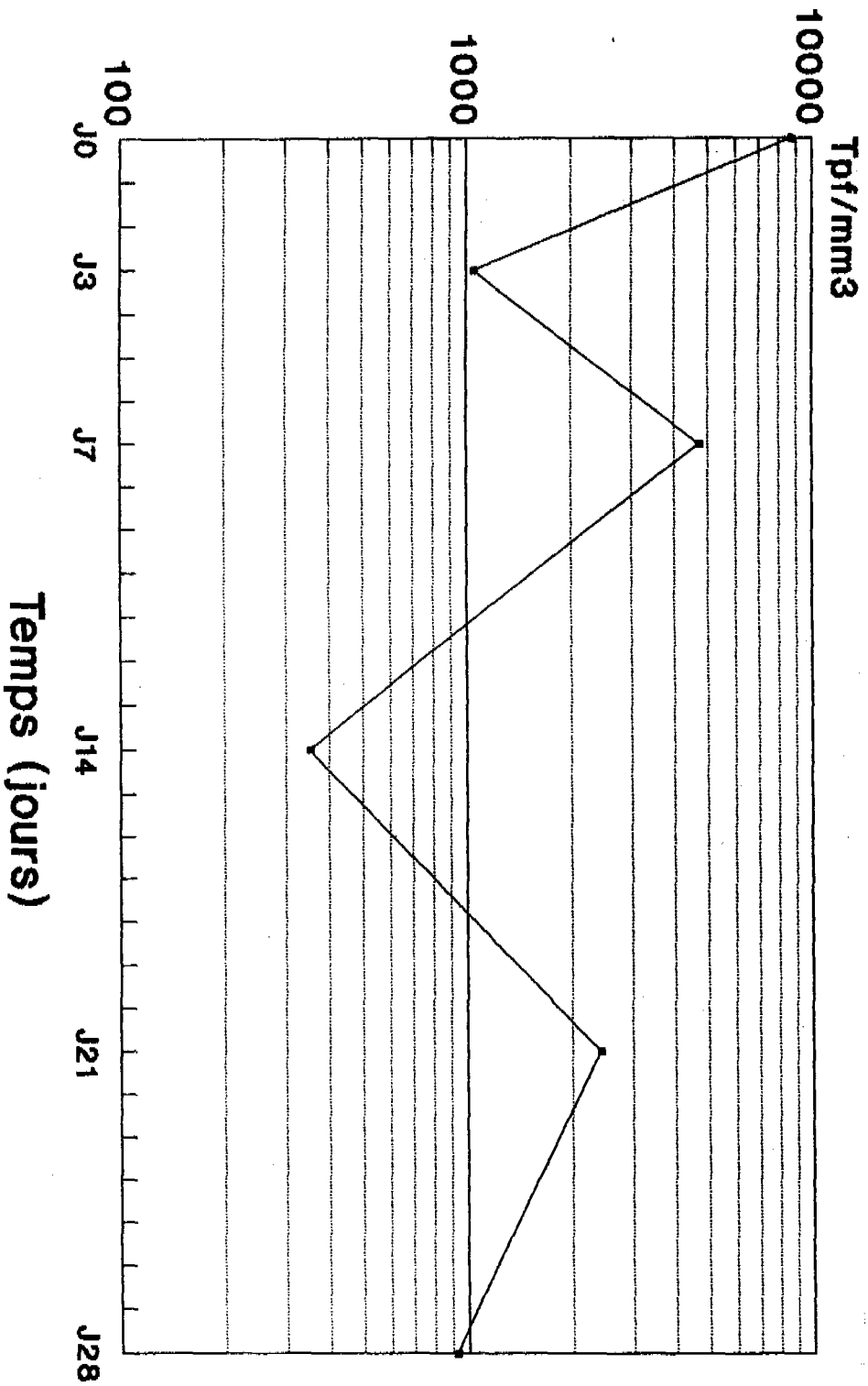


Fig 6 : Réponse de P Falciparum du sujet 1019
après traitement

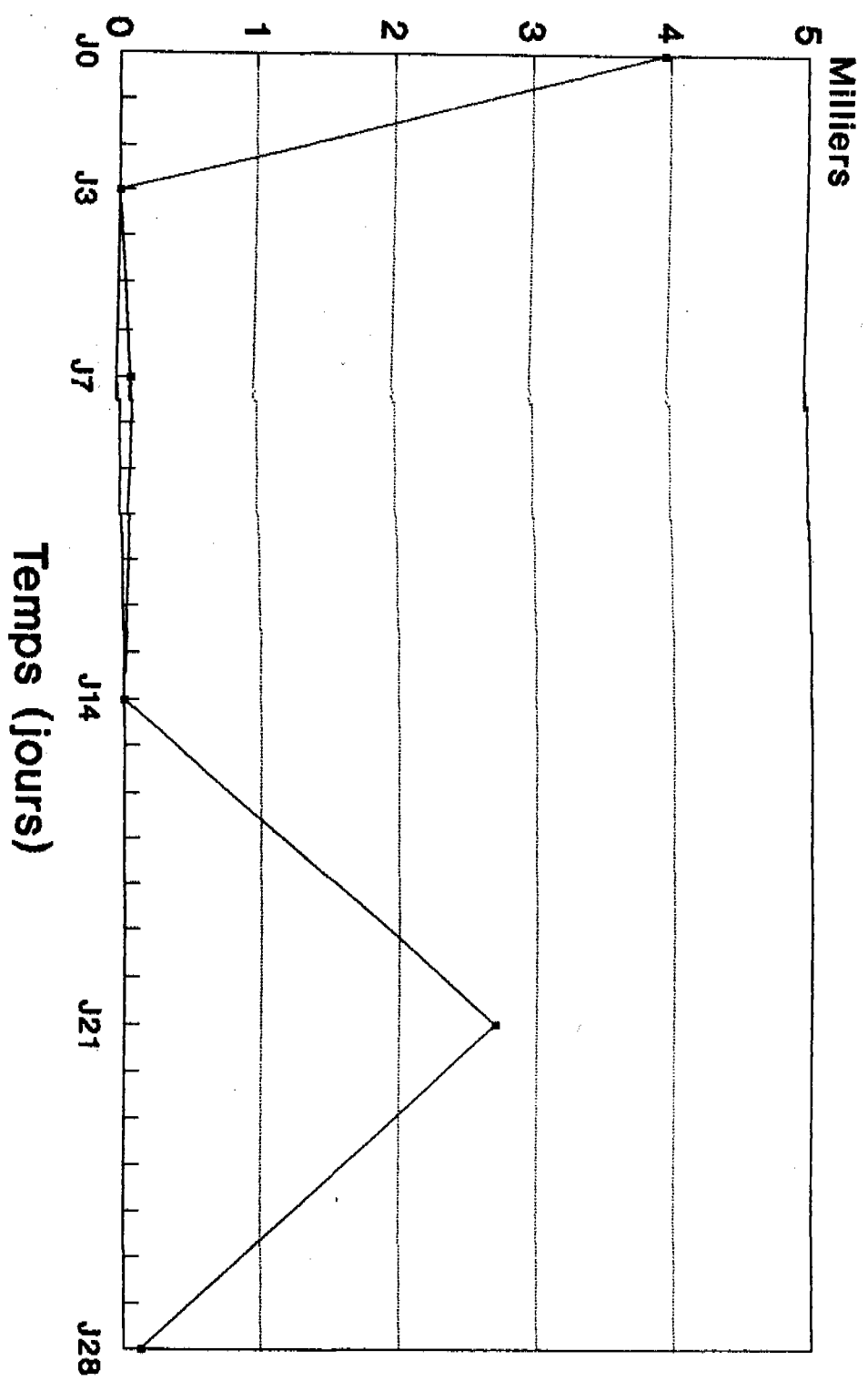
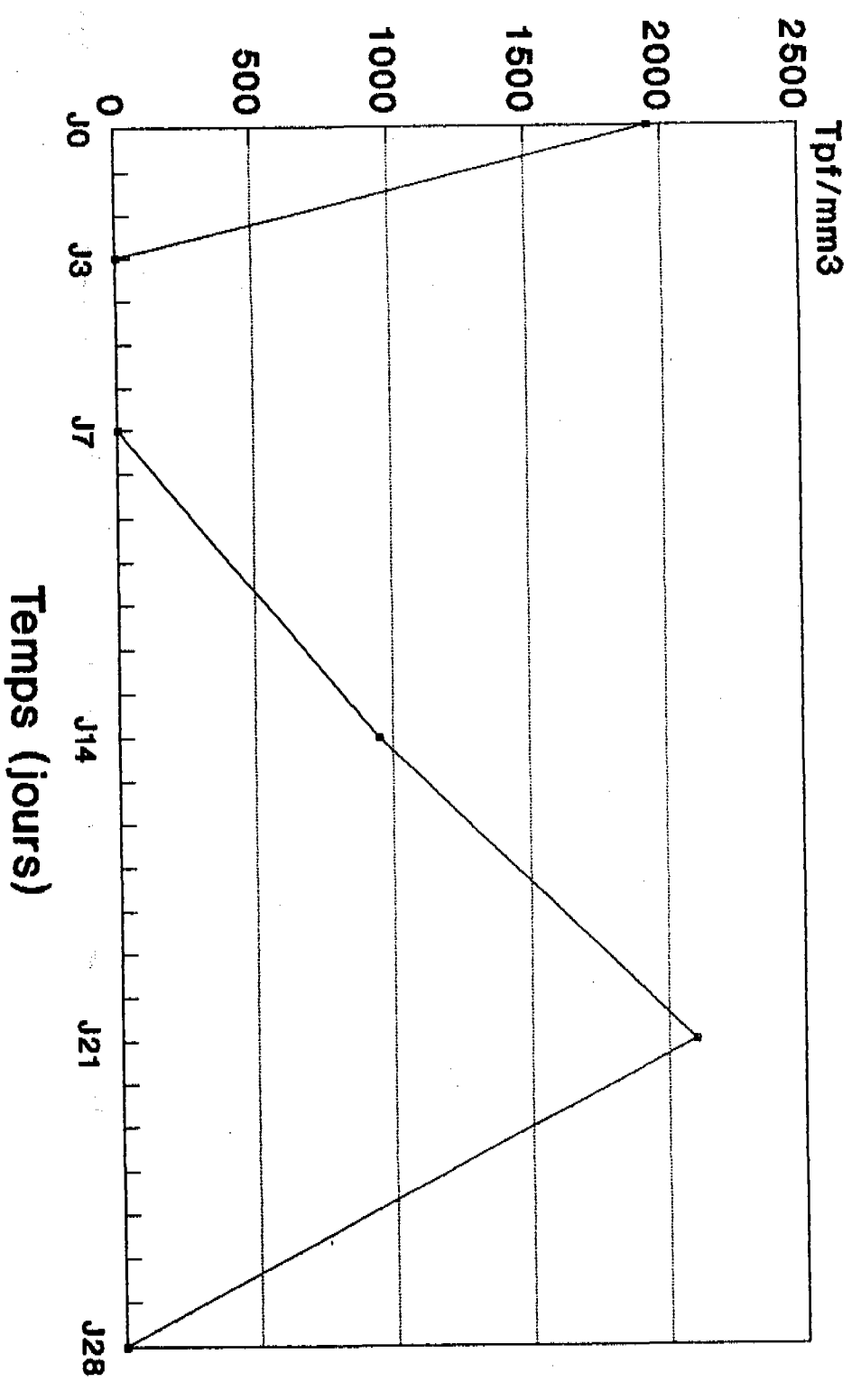


Fig 7 :

Evolution de la parasitémie du cas 1203 après traitement



COMMENTAIRE - DISCUSSION

Entre 1987 et 1989 des séries de cas de chloroquino-résistance ont été rapportés en France chez des sujets après leur retour d'un séjour au Mali. Mais des enquêtes effectuées au Mali en 1985, 1986 et 1987 n'avaient pas confirmé l'existence d'une réelle chloroquino-résistance dans la population autochtone. Les résultats obtenus avec nos 31 épreuves in vivo à Safo nous permettent de confirmer l'existence de souches locales de *P. falciparum* chloroquino-résistantes dans cette zone.

Pour nous permettre d'interpréter l'épreuve prolongée de 28 jours, nous avons concomitamment effectué une étude entomologique. Cette étude entomologique a montré que pendant cette période à Safo il n'existe pas de transmission du paludisme. En effet le taux d'inoculation était nul et ceci a été prouvé par capture nocturne et par spray-catch. La densité anophélienne moyenne n'était que de 0,07. Le nombre de piqûres par homme et par nuit était de 0,093 (capture nocturne) et de 0,009 (spray-catch).

Une étude similaire menée dans la même zone par notre équipe "entomo" pendant la saison de transmission (Septembre-Octobre 1988) avait trouvé un indice sporozoïtique global(méthode ELISA) de 15,77% (67). Le nombre de piqûres moyen par homme et par nuit était de 3,63 et le taux d'inoculation entomologique était de 0,57.

La transmission était assurée par les espèces vectrices appartenant au membre du complexe *Anopheles gambiae s.l.* Ce sont de très bons vecteurs décrits par TOURE Y.T. en 1985 (69) et par VINCENT R. et Coll. (74) en Afrique au Sud du Sahara. La densité anophélienne moyenne par case était de 17,5 au spray-catch. L'indice sporozoïtique obtenu à Safo en 1988 était très élevé par rapport à celui obtenu dans la zone voisine de Banambani (0,020) déterminé par microscopie (TRAORE S.F.) (72).

La persistance de la parasitémie malgré l'absence de transmission à Safo pendant la période de notre étude s'explique par une schizogonie résiduelle que nous avons observée et suivie depuis 1989.

Pour dépister la chloroquinurie (pour la sélection des sujets de notre échantillon et la vérification de l'absorption effective du médicament pendant le traitement), nous avons utilisé le test de Dill-Glazko modifié. Le choix de ce test s'explique par sa réalisation simple sur le terrain, son interprétation facile n'exigeant pas de spécialiste. La réponse est qualitative et visuelle donc applicable pour la surveillance de la chimiosensibilité par les agents de santé au niveau périphérique. Au cours d'une étude antérieure menée à Safo par notre laboratoire (DOLO A, 24) il a été démontré par expérimentation, qu'on pouvait améliorer sa sensibilité en augmentant la concentration d'éosine dans la solution.

Ainsi nous avons doublé la concentration d'éosine préconisée par DILL et GLAZKO (50mg).

Ceci nous a permis d'obtenir 87,09% d'urines positives à J7 et 9,67% à J14, alors qu'avec la concentration préconisée par DILL et GLAZKO (50) l'OMS a fixé à 48 heures la fiabilité du test.

Le choix de l'épreuve prolongée de 28 jours dans notre étude a été motivé par :

- le souci de faire la distinction entre la sensibilité (S) et le degré de résistance RI qui ne peut être décelé que par l'apparition d'une recrudescence après une réponse initiale normale;

- le fait que tout risque de réinfestation était écarté pendant la période d'étude dans la zone (risque qui pouvait rendre ininterprétables les résultats de cette épreuve).

Tenant compte de l'acceptabilité des populations de ce village et la faisabilité pratique, que nous connaissons bien, nous n'avons pas effectué de contrôle parasitologique au jour 1 et au jour 2.

Nous n'avons pas pu couplé le test in vitro par manque de réactifs fiables.

Ainsi les résultats obtenus avec nos 31 épreuves validées définitivement nous permettent d'affirmer l'existence de souches de *P.falciparum* chloroquinorésistantes dans cette zone. Nous avons trouvé globalement 29,03 % de souches résistantes dont :

- 2 cas de résistance de type RII soit 6,45%;
- 2 cas de résistance de type RI précoce;
- 5 cas de résistance de type RI tardif.

Nous n'avons pas observé de résistance de type RIII.

Les trois sujets exclus du test pour évolution grave, avaient donné une réponse initiale favorable mais par la suite ont présenté une forte recrudescence accompagnée d'un accès fébrile.

Nous avons inclu dans notre étude les sujets dont nous avons vérifié la prise orale effective de 25mg/Kg d' amino-4-quinoléines en trois jours. Nous n'avons pas mesuré les taux sanguins de ces produits et nous ne savons pas si certains cas de diminution d'efficacité ne sont pas dus à des taux faibles de ces produits par malabsorption ou par métabolisation accélérée.

L'absence de réponse de certains sujets au test de DILL et GLAZKO à J1 et à partir de J3 peut s'expliquer par des variations pharmacocinétiques individuelles de la chloroquine.

En 1987 P.N. MBANZULU et Coll. (51) de Kinshasa (Zaïre) ont appliqué le schéma thérapeutique de 1200mg de chloroquine base en deux prises: 600mg/jour pendant deux jours consécutifs. A cette posologie, 2,3% des souches de *P.falciparum* résistent au traitement. Le test a porté sur 200 sujets âgés de 14 à 34 ans ayant tous consulté pour une symptomatologie évoquant le paludisme clinique. Le faible taux de chimiorésistance mise en évidence par le test in vivo s'explique par une immunité partielle de ces adultes. Au J3, la densité parasitaire pour les cas résistants connaît une baisse d'environ 85%, ceci correspond à une résistance de type RII (modèle OMS). Le taux moyen de chloroquine dans le sang du groupe traité et guéri est de 0,46 microgramme/ml \pm 0,07 contre 0,45 microgramme \pm 0,04 pour le groupe résistant. La comparaison de ces taux ne

présente aucune différence statistique significative.

En 1989, J. DELMONT et Coll. (20) ont réalisé 204 tests in vivo chez de jeunes enfants scolarisés Centrafricains. Ces épreuves ont montré qu'en moyenne 10% des enfants parasités par *P.falciparum* et traités par une dose de 25mg/Kg de chloroquine administrée sur une période de trois jours demeurent porteurs de parasites au 7^e jour après le début du traitement. Compte tenu de l'immunité partielle que présentent les enfants Centrafricains contre le paludisme selon ces auteurs, la chimiorésistance aux amino-4-quinoléines s'exprime encore peu du point de vue clinique comme le prouve l'absence de chimiorésistance de type RIII.

De 1987 à 1989, sur une période de deux ans, C. HENGY et Coll. (42) ont comparé l'utilisation des traitements habituellement prescrits, définis comme "standards", et celle de nouveaux schémas utilisant 35mg/Kg d' amino-4-quinoléine sur trois jours. Pour le test d'efficacité in vivo des traitements standards, 95 sujets ont été traités par la chloroquine à la dose de 35mg/kg en cinq jours (10,10, 5, 5, 5mg/kg). 75 sujets ont été traités par l'amodiaquine à la dose de 25mg/Kg en cinq jours.

Quant à l'évaluation des nouveaux schémas thérapeutiques, les patients ont été traités par la chloroquine ou par l'amodiaquine à raison de 35mg/Kg en trois jours selon le protocole suivant :

- le premier jour, 10mg/Kg puis 5mg/Kg 12 heures après la 1^{ère} prise ;
- les deuxième et troisième jours, 5mg/Kg toutes les 12 heures.

Pour les deux protocoles à J0 et J7 un examen clinique, parasitologique et un prélèvement de sang sur tube sans anticoagulant a été effectué chez tous les sujets.

Ces auteurs ont constaté que le taux d'efficacité de la chloroquine prescrite à 35mg/kg est sensiblement identique pour administration en trois ou en cinq jours. Il n'est pas observé de meilleure efficacité thérapeutique par rapport au schéma de l'OMS, de 25mg/Kg en trois jours.

Ces constatations concordent avec nos résultats obtenus à la dose de 25mg/kg de chloroquine sur trois jours sur des sujets porteurs asymptomatiques de *P.falciparum*.

CONCLUSION – RECOMMANDATIONS

A partir de diverses enquêtes menées chez des expatriés européens et maliens résidant en Europe, après leur séjour au Mali et d'une enquête de terrain effectuée dans une zone rurale malienne, de mars en avril 1991, nous débouchons sur l'existence d'une chloroquino-résistance réelle *in vivo* des souches locales maliennes de *P. falciparum*. L'absence d'enquête exhaustive pour évaluer l'ampleur du problème dans tout le territoire national ne permet pas de situer l'importance épidémiologique du phénomène actuellement. La mise en place d'une équipe nationale active afin de surveiller l'extension de la chimiorésistance des souches locales apparaît aujourd'hui comme une nécessité absolue.

Face à cette situation actuelle nous recommandons :

A. Que des mesures précises et rapides soient prises, à savoir :

- 1) La promotion du meilleur usage de la chloroquine afin de réduire la pression médicamenteuse ;
- 2) Une automédication à doses curatives efficaces des cas de fièvres ;
- 3) La vérification obligatoire de la chloroquine UMPP avant sa mise sur le marché national ;
- 4) L'usage abusif et mal adapté de la quinine doit être prohibé en raison du risque d'écllosion d'une résistance à cette drogue réservée aux cas de chimiorésistance.

B. Des mesures thérapeutiques :

- 1) Le traitement de tout accès fébrile d'étiologie palustre confirmée ou présumée par une dose de 25 mg de chloroquine par kg de poids corporel répartie sur trois jours consécutifs lorsque le sujet ne vomit pas et ne présente aucun signe de gravité.

Si le sujet présente une fièvre avec des signes digestifs et/ou neurologiques, il sera traité comme suit:

- Quinine ampoule IV (obligatoire s'il ya des signes neurologiques) 25 mg/kg/jour (8mg/kg x3);

- Dès l'arrêt des signes digestifs et /ou retour à la conscience on passe à la Quinine comprimé avec 25mg /kg sur sept jours.

2) Si on a affaire à un paludisme résistant à la chloroquine le traitement sera

a. Fièvre sans vomissements et sans signes de gravité:

- Quinine comprimés 25mg /kg/ jour pendant 5 jours
- Ou sulfadoxine-pyriméthamine comprimés 25 mg/kg en une prise unique
- Ou amodiaquine comprimés 25 mg/kg sur trois jours
- Ou fansimef comprimés

b. Fièvre avec signes digestifs et/ou signes neurologiques :

- Quinine ampoules IM ou IV (obligatoire s'il ya des signes neurologiques) :
25mg/kg/ jour (8mg/kg x3)
- Dès l'arrêt des signes digestifs et/ou retour à la conscience :
.Quinine comprimés 25mg/kg/ jour jusqu'au septième jour de traitement;
.Ou sulfadoxine-pyriméthamine 25mg/kg en une prise unique;
.Ou halofantrine 25mg/kg en 3 prises en un jour;
.Ou fansimef comprimés

C. Des mesures prophylactiques :

1°) Une mesure doit être réhabilitée: la lutte contre les piqûres de moustiques nocturnes, applicable à tous, partout, toujours, recourant aux moyens individuels ou collectifs les plus efficaces (vêtements adaptés, répulsifs, pulvérisations et surtout moustiquaires et rideaux imprégnés d'insecticides.

L'assainissement du milieu est une mesure communautaire plus que jamais nécessaire.

2°) La chimioprophylaxie permanente doit être abandonnée et prescrite brièvement chez le sujet non immun et la femme enceinte.

On prescrira la chloroquine, à la posologie de 100mg/jour chez l'adulte (1,5mg/kg/jour chez l'enfant), 6 jours sur 7.

D. Enfin la poursuite de cette étude par des tests couplés in vivo/in vitro permettra de mieux apprécier la sensibilité des souches locales et d'élaborer une stratégie nationale de lutte.

RESUME

Nous avons effectué du 10 mars au 9 avril 1991, dans une zone de savane Nord soudanienne du Mali, une enquête visant à évaluer la sensibilité des souches de plasmodium falciparum à la chloroquine (25mg/kg sur 3 jours). Cette enquête a été associée à une étude retrospective de 1985 à 1990, portant sur diverses enquêtes menées au Mali et en Europe sur des sujets ayant séjourné au Mali, en vue de faire le point de la situation actuelle au Mali.

Le test in vivo de 28 jours appliqué sur le terrain a concerné les porteurs de paludisme-infection. Ce test consiste à administrer par voie orale une dose de 25mg/kg de chloroquine en 3 jours avec une observation parasitologique de 28 jours.

Une enquête entomologique a été également effectuée.

Sur 350 sujets soumis au dépistage, 119 étaient porteurs asymptomatiques de plasmodium falciparum, soit un indice plasmodique de 34%. Parmi ces derniers 64 enfants âgés de 4 à 12 ans ont été sélectionnés pour le test, dont 31 tests ont définitivement été validés. La parasitémie moyenne était de 3.802 trophozoïtes de plasmodium falciparum par mm³ de sang.

A j3 (4^e jour du traitement) 2 sujets avaient une persistance de leur parasitémie (soit 6,45% des sujets testés). A j7 (8^e jour) 3 sujets étaient parasités (9,67% de l'effectif) et à j14, 7 personnes ont présenté une parasitémie (22,58%).

Ces résultats, confrontés à ceux de notre étude retrospective nous permettent d'affirmer l'existence d'une chimiorésistance à la chloroquine de type RI et RII au Mali des souches de plasmodium falciparum.

MOTS CLES : Paludisme, Résistance, Chloroquine, Mali.

BIBLIOGRAPHIE :

1- AMBROISE T. P.,CARNAVALE P.,FELIX H.,MOUCHET J.

Le paludisme, Encyclopédie médico-chirurgicale (Paris) 8089A10-9 1984.

2-Anonyme:

Paludisme: le problème n° 1.

Aide Visuel du praticien.

3- BAUDON D.,ROBERT V., BOUDIN C.,CARNAVALE P.,GAZIN P.

Moyens de lutte antiparasitaire: chimiothérapie antipalustre et résistance,
les vaccins, lutte antivectorielle.

In Etudes Médicales; septembre 1984-n°3.

4-BERNARD J., SARROUY .,DUPASQUIER I., LESBORDES J.L., GIMENEZ M., GEFFRAY L.,
BEKER J.M., MOLINAS J.M., JOURDAN G.

Traitement du paludisme d'importation à Plasmodium falciparum par
l'halofantrine. Apropos de 59 observations.

Médecine Tropicale- volume 50-N° 1- Janvier-Mars 1990.

5- BJORKMAN A. and PHILIPS-HOWARD P. A.

Drug-resistance malaria: mechanisms of development and inferences for
malaria control.

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (1990) 84,
323-324.

6- BJORKMAN A. AND PHILIPS-HOWARD P. A.

The epidemiology of drug-resistant malaria

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (1990)
84, 177-180.

7- BOURGEADE A., FAUGERE B., NOSNY Y.

Prévention du paludisme chez le voyageur ou l'expatrié.

Médecine Tropicale-volume 50- n° 1-Janvier-Mars 1990.

8- BOUTEILLE B., BUXERAUD J., DARDE M.L., DREFFUS G. ET PETERS-ALEXANDRE.

Le paludisme: Maladie- Prophylaxie- Traitement.

In Les Actualités Pharmaceutiques N°223, juillet 1985.

9- BRICAIRE François, DANIS Martin, GENTILINI Marc:

Antipaludiques et Grossesse

In Cahiers Santé 1991; 1: 39-46.

10- BRUCE-CHWATT L.J., BLACK R.H., GRAIG-J. CANFIELD, CLYDE D.F., PETERS W.,
WERNSDORFER W.H.

Chimiothérapie du paludisme

Deuxième , O.M.S.-Genève-1984.

11- BRYSKIER A., LABRO M.T.

Mode d'action des antipaludiques

In Paludisme et Médicaments, Arnette (PARIS), 1988.

12- BRYSKIER A., LABRO M.T.

Problèmes thérapeutiques du paludisme

In Paludisme et Médicaments , Arnette, (PARIS), 1988.

13- BRYSKIER A. et LABRO M.T.

Relation hôte-parasite, hôte-Médicament

In Paludisme et Médicaments, Arntte, (PARIS), 1988.

14- CHARMOT, G., COULAUD J.P.

Le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* en Afrique (à l'exception des formes pernicieuses).

Médecine Tropicale , volume 50- N°1- Janvier-Mars 1990.

15- COULANGES P., LE BRAS J., DELORON P., RAMANAMIRIJA J.A., BIAUDJ.M.,
MARCHAIS H.

Etude in vivo et in vitro de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à Madagascar- 1982-1986.

16- COOSMANS M.

Bioécologie des vecteurs du paludisme en Afrique au Sud du Sahara en relation avec la transmission.

Institut de Médecine Tropicale, Nationalestraat155, B 2000, Antwerpen, Belgique.

17- DAOU R.

Etude de la tolérance et l'efficacité gamétocytocide d'un nouvel antipaludique: l'Halofantrine;

Thèse de doctorat en Pharmacie, Bamako (1985).

18- DEMBELE M.

Evaluation entomologique, parasitologique et clinique de l'efficacité des rideaux et couvertures imprégnés à la permétrine dans la stratégie de contrôle du paludisme.

Thèse de doctorat en Médecine-ENMP (1989).

19- DEMBELE M.

Evaluation épidémiologique du paludisme avant la mise en oeuvre du barrage de Sélingué.

Thèse de doctorat en Médecine- ENMP;(1981).

20- DELMONT J., BOUQUETY J.C., TESTA J., OLIVIER T., ROUNGOU J.B. GEORGES A.J.
SIOPATHIS R.M.

Chimiorésistance du paludisme et attitudes thérapeutiques nouvelles en République Centrafricaine.

Médecine d'Afrique Noire: 1990, 37(7).

21- DELMONT J. TESTA J., GEORGES A.J.

Chimiorésistance du paludisme, difficultés d'aujourd'hui, perspectives vaccinales, espoir de demain.

Médecine d'Afrique noire : 1990, 37(7).

22- DELMONT J., SIOPATHIS R.M., TESTA J., ROUNGOU J.B., MONGES P.

MAMADOU YAYA F.

Evaluation de la chimiorésistance de Plasmodium falciparum à la chloroquine chez les enfants centrafricains: bilan de cinq années (1984-1988) d'étude par test in vivo.

Médecine d'Afrique Noire: 1990, 37(7).

23- Dr DIAWARA F.N., Dr SIDIBE T., Pr KEITA M.M., Dr MAIGA S., Dr TSTYKN L

Aspects épidémiologiques des convulsions du nourrisson et de l'enfant dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel TOURE (Bamako)

Médecine d'Afrique Noire: 1991, 38(2).

24- DOLO A.

Efficacité schizontocide d'un nouvel antipaludique: Chlorhydrate d'Halofantrine.

Thèse de doctorat en Pharmacie, ENMP (1985).

25- DOUMBIA O.

Paludisme au Mali: passé, présent et avenir;

Thèse de doctorat en Médecine, Bamako, 1977.

26- DOUMBO O.

Etude de l'efficacité schizontocide d'un phénantrène-méthanol (chlorhydrate d'Halofantrine) sur les Plasmodium humains au Mali (resultats préliminaires)

Mémoire de parasitologie générale, Faculté de Médecine de Marseille (1985).

27- DOUMBO O. SANGARE O. TOURE Y.T.

Le paludisme dans le sahel : l'exemple du Mali.

Maladies transmissibles, Ed AUPELF. UREF Libby, Eurotest. Paris (1989).

28- ELUEZE E.I. OSISANYA J.O.S. and EDAFIOGHO I.O.

Sensitivity to chloroquine in vivo and in vitro of plasmodium falciparum in Sokoto, Nigeria.

Transactions of the Royal Society of Tropical Médecine and Hygiene (1990)
84, 45.

29- FRÜT K. DOUMBO O. MULLER H.M., KOITA O. McBRIDE J., GRISANTI A. TOURE Y., and BUJARD H.

Human antibody response against the major merozoïte surface antigen of P. falciparum is strain specific and short lived.

Infection and Immunity, Apr. 1991, p.1319-1324

30- GAZIN P.

Le paludisme en Afrique au sud du sahara: comparaison entre les milieux urbains et ruraux.

In Cahiers Santé 1991, 1: 33-38.

- 31- GAZIN P. LOUIS J.P. MULLER L., EBERLE F., JAMBOU R., MOYROUD ET HENGY C.
Evaluation par test simplifié in vivo de la chimiosensibilité du Plasmodium
falciparum à la chloroquine et à l'amodiaquine dans le sud Cameroun;
Médecine Tropicale- volume 50- n° 1- Janvier- Mars 1990.
- 32- GBARY A.R., GUIGUEMDE T.R., OUEDRAOGO J.B., BAUDON D., DOUCHET C.J.J., LE
BRAS J. ET BREMAN J.
L'O.C.C.G.E. et la surveillance de la chimiosensibilité de Plasmodium
falciparum aux antipaludéens.
Bull. Soc. Path. Ex. 80, 1987, 461-468.
- 33- GENTILINI M., DUFLO B., DANIS M. LAGARDERE B., RICHARD-LENOBLE D.,
BRUCKER G., MOUCHET J., ROSE NHEIM M.
Médecine Tropicale.
Flammarion Médecine-Sciences, 4è édition (1986) Paris pp81-108.
- 34- GENTILINI M. DANIS M., MOUCHET J.
Stratégies préventives actuelles du paludisme.
Bull. Acad. Natle Med. 1990, 174, N° 1, 147-160, séance du 30 Janvier 1990.
- 35- GEORGES W. GARY W. L., MAX GROGL and SAMUEL K. Martin.
Reversal of drug-resistance falciparum malaria by calcium antagonists:
potential for host cell toxicity.
WHO/MAL/90. 1056.
- 36- GOLVAN Y. J.
Eléments de parasitologie médicale
Paris, Flammarion 1983 p 574.
- 37- GOLVAN Y.J. AMBROISE T.P.,
Les techniques en parasitologie
Paris, Flammarion 1984, p208

38- GUIGUEMDE T.R.

Mécanismes de la résistance de *P. falciparum* aux Amino-4 quinoléines.

39- GUIGUEMDE T.R., LE BRAS J., BAUDON D., OUEDRAOGO J.B., GBARY A.R., DOUCHET C.

Baisse de sensibilité et résistance de *Plasmodium falciparum* en Afrique de l'Ouest.

Publications Médicales Africaines, N° spécial, 92 bis, 1988.

40- GUINDO M.

Contribution à l'étude du traitement traditionnel du "SUMA" (paludisme)

Thèse de doctorat en Pharmacie, ENMP (1988).

41- HAIDARA S. A., DOUMBO O. TRAORE A.H., KOITA O., DEMBELE M. DOLO A.,

PICHARD E., DIALLO A.N.

Place du paludisme dans les syndromes fébriles en Médecine Interne à l'hôpital du point G.

Médecine d'Afrique Noire: 1991, 38(2).

42- HENGY C., GAZIN P., EBERLE F., JAMBO R., LOUIS T.P.

Evaluation de l'efficacité des amino-4 quinoléines en zone de chimiorésistance: propositions de nouveaux schémas thérapeutiques.

Médecine Tropicale-volume 50-N° 1-Janvier_Mars 1990.

43- ILYA Y., GLUSMAN, DONALD J.KROGSTAD, AUGUSTINE U.O., KANO N. THOMAS E.W., J.

TYLER M. and PAUL H.S.

A rapid in viro test for chloroquine-résistant *Plasmodium*.

In j. Trop. Med. Hyg., 42 (6) 1990, pp521-526 (90-019).

44- ISSACSON M. and al.

Chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Namibia

Lancet, 1984; 2 (8. 393); 42.

45- KOITA N.

Acomparative study of the traditional remedy "SUMA-KALA" and chloroquine as treatment for malaria in a rural area of Mali.

MD (ENMP du Mali), Septembre 1989.

46- KOITA O.

Contribution à l'étude épidémiologique du paludisme le long du tronçon de la route transaharienne du Mali août-septembre 1988.

Thèse de doctorat en Pharmacie, ENMP (1988) Bamako.

47- LE BRAS J., RINGWALD P.

Situation de la chimiorésistance du plasmodium falciparum en Afrique en 1989.

Médecine Tropicale -volume 50-N°1- Janvier-Mars 1990.

48- LOUIS J. P., HENGY C., TREBUQ A., GAZIN P.

Stratégie préventive du paludisme: propositions pour l'Afrique Centrale.

Médecine Tropicale- volume 50- N°1 - Janvier- Mars 1990.

49- MAIGA S. A., BRINKMAN A.

Risk in a national malaria control programme in Mali: underdosage of antimalarials.

Trop. Med. Parasit. 38 (1987) 333-334.

50- MAIGA S. A., BOUGOUDOGO F., COULIBALY B. OUATTARA B., MAIGA A.

Etude de la sensibilité de Plasmodium falciparum à la chloroquine par les épreuves in vivo et in vitro dans une zone rurale de savane au Mali.

Médecine d'Afrique Noire : 1991, 38 (2).

51- MBANZULU P;M., KADIM N., NGUIMBI N.P., NGANGOUE C., ELENGA E., KABA S.
MAKENGO N. LOMBE B., MIANKANINA B., ET NGBEGE E.

Chimiorésistance du paludisme de plasmodium falciparum à KINSHASA: test
in vivo et absorption de chloroquine.

Bull. Soc. Path. Ex., 81, 1988, 83-88.

52- MILLELIRI J.M., WENGARTEN A.

La mission paludéenne de l'Armée de l'Orient (1917): La carte postale
illustrée, moyen d'information et de propagande par l'image .

Médecine Tropicale - volume 50- N°3, Juillet-Septembre 1990.

53- N'DIAYE M.

Contribution à l'étude des anticorps naturels anti-P190: antigène majeur de
la surface du mérozoïte de Plasmodium falciparum (Welch 1897).

Thèse de doctorat en Pharmacie, Bamako (1989).

54- NGUYEN - DINH PHUC.

Immunologie du paludisme et vaccin antipaludéen.

Actes de la conférence internationale sur les stratégies de lutte contre les
paludismes, Bobo-Dioulasso-11-14 Avril 1988.

55- OMS

In vivo assessment of Plasmodium falciparum sensitivity chloroquine in
Ethiopia.

MAL/86- 1023.

56- OMS

Micro-Test (MarkII) in vitro pour l'évaluation de la réponse de Plasmodium
falciparum à la chloroquine, la méfloquine, la quinine, l'association
Sulfadoxine-Pyriméthamine et l'amodiaquine.

MAL/87_2

57- OUEDRAOGO J.B., GBARY A.R., GUIGUEMDE T.R.

Surveillance de la chimiosensibilité de Plasmodium falciparum aux antimalariques en Afrique de l'Ouest: Enquête sur la chimiosensibilité du paludisme et formation d'une équipe nationale aux tests de chimiosensibilité au Mali.

N°10-87/PAR_CM

N°9-180/87/DOC_TECH_ O.C.C.G.E.

58- OUEDRAOGO J.B., GUIGUEMDE T.R., SOMBA A., GBARY A.R. BAUDON D.

Une méthode simplifiée de surveillance active de la chloroquino-sensibilité de Plasmodium falciparum par les centres de santé périphériques.

Médecine d'Afrique Noire: 1987, 34(8-9).

59- PAYNE D.

Aspects pratiques des épreuves in vivo de sensibilité des plasmodies humaines aux antipaludiques.

OMS/MAL/82_988.

60- PAYNE D.

Aspects pratiques de l'utilisation des systèmes standards OMS d'épreuve in vitro (macro- et micro-test) pour la détermination de la sensibilité de Plasmodium falciparum à la chloroquine, la méfloquine, l'amodiaquine et la quinine.

OMS- PAR/84-2.

61- PETRUCCI M.T.

Histoire de la prophylaxie du paludisme.

Thèse de Doctorat en Médecine; Université Aix-Marseille II, Faculté de Médecine (28 Janvier 1991).

62-PEYRON F., OURY B., AMBROISE T.P.

La vaccination antipaludique : où en est-on?

Médecine Tropicale, volume 50- N°1- Janvier-Mars 1990.

63- RACOURT C.P., AROUKO H., DJOSSOU F., MACAIGNE F., MASSOUGBODJI A.,
ZOHOUN T., SADELER B.C., RIPERT C.

Sensibilité in vivo du Plasmodium falciparum à l'amodiaquine dans la ville de
Cotonou et ses environs (Benin).

Med. Trop. volume 50-N°1- Janvier-Mars 1990.

64- RACOURT C.P., LE BRAS M., CUISINIER-RAYNAL J.C., RIPERT C., CARTERON B.

Le paludisme d'importation dans les hopitaux de Bordeaux en 1987-1988

Etude de 185 cas .

Med. Trop. vol. 50-N°1-Janvier-Mars 1990.

65- RINGWATT P., LE BRAS J., DOURY J. C.:

Actualisation des recommandations en matière de prophylaxie du paludisme
pour les voyageurs.

B.E.H. N°25/1990- 25 Juin 1990.

66- SALIOU P.

Perspectives de vaccination contre le paludisme.

Actes de la Conférence Internationale sur les stratégies de lutte contre les
paludismes (Bobo-Dioulasso 11-14-Avril 1988).

67-SANGARE D.

Etude de l'agressivité de la faune culicidienne à SAFO, arrondissement de
Kalankoro, cercle de Kati : Incidence sur la transmission du paludisme.

Mémoire de biologie, ENSUP 1989.

68- SPIEGEL A., DOURY J.C., DAUMERIE D., BAUDON D.,

Chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* en Afrique subsaharienne: Bilan de deux ans et demi d'étude à l'institut de médecine tropicale du service de santé des Armées.

Med. Trop. vol. 50-N° 1-Janvier-Mars 1990.

69- TOURE Y.T. 1985

Génétique écologique et capacité vectorielle des membres du complexe AN. *Gambiae* au Mali.

Thèse de Doctorat d'Etat de sciences naturelles, faculté St JEROME des sciences et techniques Aix-Marseille III.

70- TOURE Y.T. DOUMBO O. ET TRAORE S.F.

Relations du taux d'inoculation entomologique avec l'acquisition de l'immunité contre le paludisme.

Conférence Internationale - Bobo-Dioulasso, 11-14 Avril 1988.

71- TOUZE J.E.

Le paludisme en Afrique: Incertitudes et Perspectives;

Med.Trop. Vol.50- N° 1- Janvier-Mars 1990.

72- TRAORE S.F.

Etude de comportement et de la contribution à la transmission du paludisme des membres du complexe d'An. *Gambiae* à Banambani;

Thèse de Doctorat 3è cycle en sciences ISFRA? Bamako 1990.

73- TRINH Kim Anh, NGUYEN Van Kim, KEITH Arnold, VOVAN Chien,

NGUYEN NGoc Bich, KIM THOA and J. LADINSKY.

Double-Blind studies with mefloquine alone and in combination with Sulfadoxine-Pyrimethamine in 120 adults and 120 children with *falciparum* malaria in VIETNAM.

Transactions of Royal Society of tropical medicine and hygiene (1990) 84,

74- VINCENT R. 1989.

Transmission du paludisme humain : zone de savane d'Afrique de l'Ouest.

Thèse 3è cycle Paris VI.

75- WORLD HEALTH ORGANISATION.

The epidemiologic of drug - resistance of malaria parasites: rapport of an informal consultation of scientific working proup on applied field research in malaria.

TDR/FIELD MAL-SWG (4)/86-3. Geneva 10-14 november 1986.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'HIPPOCRATE, je jure au nom de l'Etre Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun pargé clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui se passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas ^{qu'}des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent ~~s'interposer~~ ^{s'interposer} entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs ^{enfants} l'instruction que j'ai reçue de leur père.

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.