

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE 2000



N° 16

EVOLUTION DE LA SENSIBILITE DE *Plasmodium falciparum* Welch AUX ANTIPALUDIQUES DE 1987 à 1995 à DAKAR (Sénégal)

Résultats d'études *in vitro* et *in vivo*

T H E S E

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
(DIPLOME D'ETAT)

Présentée et soutenue publiquement le 21 Février 2000

par

Issa Bella BAH

J U R Y :

Président : M. Doudou BA, Professeur

Membres : M. Samba DIALLO, Professeur

M. Omar NDIR, Professeur

M. Oumar GAYE, Maître de Conférences Agrégé

M. Mounirou CISS, Maître de Conférences Agrégé

Directeur de thèse : M. Samba DIALLO, Professeur

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

PERSONNEL ENSEIGNANT PAR GRADE ANNEE UNIVERSITAIRE 1998-1999

DOYEN M. René NDOYE

PREMIER ASSESSEUR M. Mamadou BADIANE

DEUXIEME ASSESSEUR..... Mme Thérèse MOREIRA / DIOP

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS..... M. Assane CISSE

I. M E D E C I N E

PROFESSEURS TITULAIRES

M.	José Marie		AFOUTOU	Histologie-Embryologie
M.	Mamadou		BA	Pédiatrie
M.	Serigne Abdou		BA	Cardiologie
M.	Salif		BADIANE	Maladies infectieuses
M.	Fallou		CISSE	Physiologie
M.	Fadel		DIADHIOU	Gynécologie-obstétrique
M.	Baye Assane		DIAGNE	Urologie
M.	Lamine		DIAKILATE	Hématologie
M.	Samba		DIALLO	Parasitologie
+	M. El Hadj Malick		DIOP	O. R. L.
Mme	Thérèse	MOREIRA	DIOP	Médecine interne I
M.	Sémou		DIOUF	Cardiologie
M.	Mohamadou		FALL	Pédiatrie
M.	Mamadou		GUEYE	Neuro-Chirurgie
M.	Moumar		GUEYE	Psychiatrie
M.	Nicolas		KUAKUFI	Pédiatrie
M.	Bassroun		NDIAYE	Dermatologie
M.	Ibrahima Pierre		NDIAYE	Neurologie
+	M. Madoune Robert		NDIAYE	Ophthalmologie
M.	Mouhamadou		NDIAYE	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
#	M. Mouhamadou Mansour		NDIAYE	Neurologie
M.	Papa Demba		NDIAYE	Anatomie pathologique
+	M. Mamadou		NDOYE	Chirurgie infantile
M.	René		NDOYE	Biophysique
M.	Abibou		SAMB	Bactériologie-Virologie
*	M. Abdou		SANOKHO	Pédiatrie
M.	Mamadou		SARR	Pédiatrie
*	Mme Awa Marie		COLL/SECK	Maladies infectieuses
M.	Seydina Issa Laye		SEYE	Orthopédie-Traumatologie
M.	Dédéou		SIMAGA	Chirurgie générale
M.	Abdourahmane		SOW	Médecine Préventive

+ Associé

* en détachement

mis en disponibilité

	M. Housseyn Dèmbel	SOW	Pédiatrie
	M. Mamadou Lamine	SOW	Médecine légale
	M. Moussa Lamine	SOW	Anatomie - Chirurgie
+	M. Cheikh Tidiane	TOURE	Chirurgie générale
	M. Papa	TOURE	Cancérologie
	M. Massane	WADE	Ophthalmologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

	M. Mamadou	BA	Urologie
	M. Moussa	BADIANE	Radiologie
	M. Seydou Boubakar	BADIANE	Neuro-Chirurgie
	M. Mohamed Diawo	BAH	Gynécologie-obstétrique
*	M. Mamadou Diakhité	BALL	Dermatologie
	M. Moussa Fafa	CISSE	Bactériologie-Virologie
	M. Abdourahmane	DLA	Anatomie - Chirurgie générale
	M. Amadou Gallo	DIOP	Neurologie
	M. Babacar	DIOP	Psychiatrie
	M. El Hadj Ibrahima	DIOP	Orthopédie-Traumatologie
	M. Saïd Nourou	DIOP	Médecine interne II
	M. Raymond	DIOUTE	O. R. L.
	M. Souvasin	DIOUTE	Orthopédie-Traumatologie
	M. Babacar	FALL	Chirurgie infantile
	M. Ibrahima	FALL	Chirurgie pédiatrique
	M ^{me} Mame Awa	FAYE	Maladies infectieuses
	M ^{me} Sylvie	SECK / GASSAMA	Biophysique
	M. Oumar	GAYE	Parasitologie
*	M. Serigne Magnèye	GUYE	Urologie
	M. Abdoul Almamy	HANE	Pneumophtisiologie
	M. Salvy Léandre	MARTIN	Pédiatrie
	M. Victorino	MENDES	Anatomie pathologique
	M. Jean-Charles	MOREAU	Gynécologie-obstétrique
	M ^{me} Mbayang	NIANG / NDIAYE	Physiologie
	M. Mohamed Fadel	NDIAYE	Clinique Médicale I

+ Associé

* en détachement

	M.	Papa Amadou	NDIAYE	Ophthalmologie
+	M.	Youssoupha	SAKHO	Neuro-Chirurgie
	Mme	Bineta	SALL/KA	Anesthésie - Réanimation
	M.	Mohamed Guélaye	SALL	Pédiatrie
	M.	Niama Diop	SALL	Biochimie Médicale
	M.	Moustapha	SARR	Cardiologie
	M	Birama	SECK	Pédo-Psychiatrie
+	M.	Papa Salif	SOW	Maladies infectieuses
	Mme	Haby	SIGNATE - SY	Pédiatrie
	M.	Omar	SYLLA	Psychiatrie
	M.	Doudou	THIAM	Hématologie
	M.	Meïssa	TOURE	Biochimie médicale

CHARGE D'ENSEIGNEMENT

+	M.	Claude	MOREIRA	Pédiatrie
---	----	--------	---------	-----------

MAITRES - ASSISTANTS

	M.	El Hadj Amadou	BA	Ophthalmologie
	M.	Boubacar	CAMARA	Pédiatrie
	M.	El Hadji Souleymane	CAMARA	Orthopédie-Traumatologie
	M.	Jean-Marie	DANGOU	Anatomie Pathologique
	M.	Michel	DEVELOUX	Dermatologie
+	M.	Massar	DIAGNE	Neurologie
	M.	Bernard Marcel	DIOP	Maladies infectieuses
	M.	Barahima Bara	DIOP	Cardiologie
S	M.	Alassane	DIOUF	Gynécologie obstétrique
	M.	Boucar	DIOUF	Médecine interne I
	M.	Saliou	DIOUF	Pédiatrie
	M.	Oumar	FAYE	Parasitologie
	M ^{me}	Gisèle	WOTO/GAYE	Anatomie pathologique
	M.	Abdoul	KANE	Cardiologie
	M.	Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie - Chirurgie orthopédique
	M	Adama Bandiougou	NDIAYE	Immunologie (Hématologie)

+ Associé
S en stage

·	Mme	Coura	SEYE / NDIAYE	Ophtalmologie
*	M.	Issa	NDIAYE	O. R. L.
	M.	El Hadji	NIANG	Radiologie
	M.	Doudou	SARR	Psychiatrie
	M.	Amadou Makhtar	SECK	Psychiatrie
	M.	Gora	SECK	Physiologie
	M.	Ahmed Iyane	SOW	Bactériologie-Virologie
	M ^{me}	Hassanatou	TOURE / SOW	Biophysique
	M.	Cheikhna	SYLLA	Urologie
	M.	Alé	THIAM	Neurologie

ASSISTANTS DE FACULTE – ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX

	M.	Boubacar Samba	DANKOKO	Médecine préventive
	M.	Abdoulaye Séga	DIALLO	Histologie-Embryologie
	M.	Yémou	DIENG	Parasitologie
	M.	Dialo	DIOP	Bactériologie-Virologie
	M.	Mamadou	DIOP	Anatomie
	M.	Moctar	DIOP	Histologie-Embryologie
	M.	Saliou	DIOP	Hématologie
	Mme	Mame Coumba	GAYE / FALL	Médecine légale
	Mme	Khadissatou	SECK / FALL	Hématologie
	M.	Oumar	FAYE	Histologie-Embryologie
	M.	Lamine	GUEYE	Physiologie
	M.	El Hadj Alioune	LO	Anatomie
	M.	Ismaila	MBAYE	Médecine Légale
	M.	Mamadou	MBODJ	Biophysique
	M.	Oumar	NDOYE	Biophysique
	M.	Abdoulaye	SAMB	Physiologie
	M.	Ndéné Gaston	SARR	Biochimie médicale
	M ^{me}	Anta	TAI/DIA	Médecine préventive
	M.	Kamadore	TOURE	Médecine préventive
	M.	Issa	WONE	Médecine préventive

* en détachement

CHEFS DE CLINIQUE – ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX

	Mme	Marième		GUEYE - BA	Gynécologie-Obstétrique
S	M.	Momar Codé		BA	Neuro-Chirurgie
	M.	Moussa		BA	Psychiatrie
	M.	Cheikh Ahmed Tidiane		CISSE	Gynécologie-obstétrique
	M ^{me}	Mariamana Safiétou	KA	CISSE	Médecine interne II
	M.	André Vauvert		DANSOKHO	Orthopédie- Traumatologie
	Mme	Elisabeth	FELLER	DANSOKHO	Maladies infectieuses
+	M.	Ibrahima		DIAGNE	Pédiatrie
	M.	Djibril		DIALLO	Gynécologie-obstétrique
	M.	Saïdou		DIALLO	Médecine Interne I
	M.	Ahmadou		DEM	Cancérologie
+	M.	Mame Thierno		DIENG	Dermatologie
	M.	Rudolph		DIOP	Stomatologie
	Mme	Sokhna	BA	DIOP	Radiologie
	M.	Mamadou Lamine		DIOP	Médecine interne I
	Mme	Elisabeth		DIOP	Anesthésiologie-Réanimation
	M.	Édouard Marcel Ignéty		GUEYE	Neuro-Chirurgie
+	M.	Mamadou Mourtalla		KA	Médecine Interne I
	M.	Assane		KANE	Dermatologie
+	M.	Abdoul Aziz		KASSE	Cancérologie
	Mme	Animata		DIACK - MBAYE	Pédiatrie
+	M.	Mouhamadou		MIBENGUE	Médecine Interne I
	M.	Amadou Koura		NDAO	Neurologie
	M.	Ousmane		NDIAYE	Pédiatrie
+	M.	Cheikh Tidiane		NDOUR	Maladies Infectieuses
	M.	Alain Khassim		NDOYE	Urologie
	Melle	Paule Aïda		NDOYE	Ophthalmologie
+	M.	Abdou		NIANG	Médecine Interne I
	M.	Abdoulaye		POUYE	Médecine interne I
	Mlle	Anne Aurore		SANKHÉ	Chirurgie plastique et reconstructive

+ Associé
S en stage

Mme	Anna	SARR	Médecine Interne II
Mme	Fatou	SENE	Neurologie
M.	El Hassane	SIDIBE	Médecine interne II
+	M. Masserigne	SOUMARE	Maladies Infectieuses
M.	Charles Mouhamed	SOW	Orthopédie-Traumatologie
M.	Mouhamadou Habib	SY	Orthopédie-Traumatologie
M.	Abdourahmane	TALL	O.R.L.
M	Silly	TOURE	Stomatologie

ATTACHES CHEFS DE CLINIQUES

M.	Oumar	BA	Pneumophtisiologie
Mme	Binta	DIOP, BADIANE	Anesthésiologie-Réanimation
M.	Saïba	CISSOKHO	Pneumophtisiologie
Mme	Pauline	DIOUSSE	Dermatologie
M.	Mor	NDIAYE	Pneumophtisiologie

ATTACHES – ASSISTANTS

M.	Néloum	DJIMADOUN	Histologie-Embryologie
Melle	Oumou Koulsome	SY	Biochimie-Médicale

II. PHARMACIE

PROFESSEURS TITULAIRES

M.	Doudou	BA	Chimie analytique et Toxicologie
M.	Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie
+	M. Babacar	FAYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M.	Issa	LO	Pharmacie galénique
+	M. Souleymane	MBOUP	Bactériologie-Virologie
+	M. Omar	NDIR	Parasitologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M.	Mamadou	BADIANE	Chimie thérapeutique
M.	Cheikh Saad Bouth	BOYE	Bactériologie-Virologie
M.	Mouirou	CISS	Toxicologie
M.	Balla Moussa	DAFFE	Pharmacognosie
Mme	Aissatou	GAYE-DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mme	Aminata	SALL-DIALLO	Physiologie pharmaceutique
M.	Alioune	DIYE	Immunologie
M.	Papa Amadou	DIOP	Biochimie pharmaceutique

MAITRES – ASSISTANTS

M.	Amadou	DIOLF	Toxicologie
Mme	Rita	BEREJIOUNDOUGOU-NONGONIERMA	Pharmacognosie
M.	Matar	SECK	Pharmacie chimique et Chimie Organique

A S S I S T A N T S

Mlle	Issa Bella	BAH	Parasitologie
+	M. Aynina	CISSE	Physique pharmaceutique
M.	Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
Mlle	Thérèse	DIENGI	Parasitologie

+ Associé

+	M.	Amadou Moctar	DIEYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
	M.	Yérém Mbagnick	DIOP	Chimie analytique
§	M.	Almédou Banba Koueimel	FALL	Pharmacie galénique
	M.	Djibril	FALL	Pharmacie chimique et chimie organique
	M.	Modou	LO	Botanique
	M	Aly Coto	NDIAYE	Physiologie pharmaceutique
+	M.	Augustin	NDIAYE	Physique Pharmaceutique
	M.	Mamadou	NDIAYE	Physiologie pharmaceutique
	Mme	Maguette Dème	SYLLA / NIANG	Biochimie pharmaceutique
	Mme	Philomène	LOPEZ / SALL	Biochimie Pharmaceutique
+	M.	Elimane Amadou	SY	Chimie générale et minérale
	M.	Oumar	THIOUNE	Pharmacie galénique
	M.	Alassane	WELE	Chimie Physique

A T T A C H E S

	M.	William	DIATTA	Botanique
	M	Alioune Badara	DIOP	Pharmacie Galénique
	Mme	Amy	THIAM FALL	Chimie analytique
	M.	Mamadou	FALL	Toxicologie
	Melle	Edwige	GOMIS	Pharmacognosie
	M.	Mamadou	SARR	Physiologie pharmaceutique

+ Associé

§ En stage

III. CHIRURGIE DENTAIRE

PROFESSEURS TITULAIRES

M.	Ibrahima	BA	Pédodontie - Prévention
Mme	Ndioro	NDIAYE	Ondontologie préventive et sociale

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

+	M.	Boubacar	DIALLO	Chirurgie Buccale
	M.	Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
	M ^{me}	Charlotte	FATY NDIAYE	Chirurgie Buccale
	M.	Malick	SEMBENE	Parodontologie

MAITRES - ASSISTANTS

+	M.	Falou	DIAGNE	Orthopédie Dento-faciale
	M ^{lle}	Fatou	GAYE	Dentisterie opératoire
	M.	Abdoul Wahabe	KANE	Dentisterie opératoire
+	M.	Mohamed Talla	SECK	Prothèse dentaire
	M.	Abdoul Aziz	YAM	Pédodontie

ASSISTANTS DE FACULTE

\$	Mme	Christiane	AGBOLON JOHNSON	Prothèse dentaire
	Mme	Aissatou	BA LAMBA	Pédodontie - Prévention
	Mme	Khady	DIOP BA	Orthopédie Dento-faciale
	M.	Daouda	CISSI	Ondontologie préventive et sociale
	Mme	Adam Marie Awa	SECK DIALLO	Parodontologie
+	M.	Lambane	DIENG	Prothèse Dentaire
	Mme	Afissatou	NDOYE DIOP	Dentisterie Opératoire

+ Associé
\$ en stage

	Mme	Fatou	DIOP	Pédodontie - Prévention
#	M.	Libasse	DIOP	Prothèse Dentaire
S	M.	Mamadou Moustapha	GUEYE	Odontologie préventive et sociale
+	M.	Malick	MBAYE	Dentisterie opératoire et sociale
	Mme	Paulette Mathilde	AGBOTON / MIGAN	Matières fondamentales
	M.	Edmond	NABHANE	Prothèse dentaire
	Mme	Maye Ndave	NDOYE NGOM	Parodontologie
	M.	Paul Débé Amadou	NIANG	Chirurgie buccale
	Mme	Soukèye	DIA TINE	Pathologie et Thérapeutique spéciales
	M.	Saïd Nour	TOURE	Prothèse dentaire

ATTACHES

	M.	Abdou	BA	Chirurgie buccale
	M.	Henri Michel	BENOIST	Parodontologie
	M.	Babacar	FAYE	Odontologie conservatrice- Endodontie
	M.	Daouda	FAYE	Odontologie préventive et sociale
	M.	Maliek	FAYE	Pédodontie - Orthodontie
	M.	Cheikh Moulamadou M.	LO	Odontologie préventive et sociale
	M.	Mohamed	SARR	Odontologie conservatrice-Endodontie
	Mme	Fatoumata	DIOP THIAW	Odontologie conservatrice-Endodontie
	M.	Babacar	TOURE	Odontologie conservatrice-Endodontie

DEDICACES

Je dédie ce travail

- A mon père

In memorium

- A ma mère

pour son courage et ses encouragements.

- A mes tantes Amina Calloga, Oumou, Taïbou, Saliou Dian...

pour leur tendresse et leur affection

- A mes oncles

- A mon frère Thierno et ses amis

pour leurs encouragements

**- A mes sœurs Mariama Diouldé et Salimatou et mon beau-frère
le Pr Abdourahmane SOW**

pour leur affection

- A mes frères et soeurs, neveux et nièces, cousins et cousines

pour les encourager à aller toujours de l'avant

- A mes enfants Dourah et Baïlo

Ce travail doit leur servir d'exemple

- A tous mes parents et alliés

- A tous mes amis

- A tous mes condisciples depuis le cycle primaire jusqu'à l'Université

**- A tous mes maîtres de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie**

**- A mes collègues du Service de Parasitologie de la Faculté de
Médecine et de Pharmacie de Dakar**

- **Au Docteur Arlette VICTORIUS**
- **A Monsieur Souleymane DIAGNE dit Jules**
- **A tous les membres du personnel technique et administratif du Service de Parasitologie**
- **À la Guinée, mon pays de naissance**
- **Au Sénégal mon pays d'adoption**
qui m'a accueillie et intégrée
- **A tous ceux qui me sont chers**
notamment les membres des familles Signaté, Athié, Ngom, Guèye, Diallo et Diallo Telli

REMERCIEMENTS

J'adresse mes sincères remerciements :

- A mes collègues du Service de Parasitologie :

Les Docteurs Yémou DIENG, Thérèse DIENG, Oumar FAYE.

Pour l'aide apportée pour la réalisation de ce travail

- Aux membres du personnel technique et aux vacataires du Service de Parasitologie :

MM. Abdoul Aziz. NDIAYE, Mamadou DIOUF, Souleymane DIEDHIOU, Idrissa DIATTA, Mame Gora THIOUNE, Alioune GUEYE, Bilo DIALLO et MmeAïssatou DIALLO,

Pour leur participation à la réalisation de ce travail

- A Mme Rokhaya DIOP épouse DIOUF, Secrétaire du Service de Parasitologie

D'avoir bien voulu s'occuper de la saisie et de la mise en forme du texte avec beaucoup de patience et de savoir-faire.

- Au Docteur Jean-Louis SARTHOU précédemment Chef du Laboratoire d'Immunologie de l'Institut Pasteur de Dakar et à tous les membres du personnel dudit laboratoire

Pour l'aide apportée pour la réalisation de ce travail.

- A tous les patients ayant accepté de participer à l'étude

Pour la confiance qu'ils nous ont témoignée

- Au Docteur J.F. TRAPE et les membres de l'équipe de Paludologie de l'ORSTOM-Sénégal à Dakar

Pour leur collaboration qui a été exemplaire

- **Aux sœurs responsables des dispensaires Saint Martin de Rebeuss, Saint Laurent de Gibraltar, de Derklé, de Notre Dame du Cap Vert de Pikine et à tous les membres du personnel de ces dispensaires**

D'avoir accepté que leurs locaux servent de cadre aux études et de collaborer à leur réalisation.

- **A tous ceux qui de près ou de loin ont participé directement ou indirectement à la réalisation de ce travail notamment :**

Les Professeurs Ben S. Toguebaye, Jacques Le Bras, les Docteurs Michel Joseph (Institut Pasteur de Lille -France) et Leonardo Basco

- **A l'O.M.S. Genève**

Pour la fourniture de matériels et réactifs

***A NOS MAITRES
ET JUGES***

**A notre Maître et Président de Jury
Monsieur le Professeur Doudou BA**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant avec plaisir de présider le jury de notre thèse malgré un calendrier très chargé.

Nous vous en sommes très reconnaissante et vous prions d'accepter nos sincères remerciements.

Sachez que votre présence nous honore et nous en sommes fière.

A Monsieur le Professeur Omar NDIR

Vous avez suivi de très près les travaux ayant abouti à cette thèse et nous avons pu bénéficier tout au long de son élaboration de vos conseils et encouragements.

Merci pour votre disponibilité à notre égard et vos sentiments amicaux et fraternels.

Merci aussi d'avoir accepté de faire partie de nos juges.

A Monsieur le Professeur Agrégé Oumar GAYE

Ce travail est le vôtre puisque nous l'avons exécuté ensemble sur le terrain.

Merci pour votre collaboration, vos conseils et vos encouragements.

Merci aussi d'avoir accepté de faire partie de nos juges.

A Monsieur le Professeur Agrégé Mounirou CISS

Vous nous faites un grand plaisir en acceptant de juger ce travail auquel votre service a collaboré avec efficacité .

Nous vous remercions pour cela et vous prions de croire à l'assurance de notre profonde gratitude.

**A notre Maître et Directeur de Thèse
Monsieur le Professeur Samba DIALLO**

Ce travail a été du début à la fin marqué par votre empreinte. Vous avez donné le sujet, participé à la collecte et à l'analyse des données et porté une attention particulière à la rédaction du texte et à la présentation finale du travail.

Pour tout cela, nous vous remercions du fond du cœur.

Soyez assuré de notre gratitude et de notre fidèle attachement.

“Par délibération, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation”.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE.....	3
PALUDISME : RAPPELS PARASITOLOGIQUE ET CLINIQUE.....	3
ANTIPALUDIQUES ÉTUDIÉS : STRUCTURE CHIMIQUE ET DONNÉES PHARMACOLOGIQUES.....	12
1. Introduction.....	12
2. Chloroquine.....	12
3. Amodiaquine.....	16
4. Quinine.....	17
5. Méfloquine.....	18
CHIMIORÉSISTANCE DE <i>P. falciparum</i>.....	22
1. Définition - Généralités.....	22
2. Méthodes d'étude de la chimiosensibilité de <i>P. falciparum</i>	26
3. Situation actuelle de la chimiorésistance de <i>P. falciparum</i>	37
3.1. Introduction.....	37
3.2. Chloroquine.....	37
3.3. Amodiaquine.....	41
3.4. Quinine.....	42
3.5. Méfloquine.....	44

DEUXIÈME PARTIE.....	45
CADRE BIOGEOGRAPHIQUE.....	45
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	51
1. Cadre de l'étude.....	52
2. Patients.....	54
3. Méthodes.....	54
3.1. Recrutement des patients.....	54
3.2. Tests <i>in vivo</i> de <i>P. falciparum</i> à la chloroquine.....	55
3.3. Tests <i>in vitro</i>	57
3.4. Méthodes statistiques.....	65
RÉSULTATS ET COMMENTAIRES.....	67
1. Tests <i>in vitro</i>.....	69
1.1. Echantillon.....	69
1.2. Considérations générales.....	70
1.3. Chloroquine.....	70
1.4. Amodiaquine.....	77
1.5. Quinine.....	83
1.6. Mefloquine.....	88
1.7. Corrélation entre les logarithmes des CMI des couples d'antipaludiques.....	94
1.8. Sensibilité aux autres antipaludiques des souches de <i>P.</i> <i>falciparum</i> résistantes à la chloroquine ou à l'amodiaquine.....	95
2. Tests <i>in vivo</i>	95
2.1. Caractéristiques des effectifs examinés.....	95
2.2. Taux de prévalence des souches chloroquinorésistantes....	97
2.3. Taux de prévalence des niveaux de chloroquinorésistance	98
2.4. Caractéristiques des cas de chloroquinorésistance.....	99

3. Comparaison des résultats des tests couplés <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> à la chloroquine.....	102
3.1. Taux de prévalence de la chloroquinorésistance.....	102
3.2. Corrélation entre les résultats <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	104
3.3. Caractéristiques des 4 souches résistantes <i>in vitro</i> et sensibles <i>in vivo</i>	105
DISCUSSION.....	106
Etudes <i>in vitro</i>	107
Chloroquine.....	107
Amodiaquine.....	110
Quinine.....	113
Méfloquine.....	115
Etudes <i>in vivo</i>	116
Tests couplés <i>in vivo/in vitro</i>	118
CONCLUSION.....	119
BIBLIOGRAPHIE.....	125

INTRODUCTION

Depuis une trentaine d'années la chimiorésistance du paludisme constitue un problème dans les régions endémiques. Cette résistance intéresse en effet d'une part *Plasmodium falciparum* qui est l'agent pathogène le plus répandu et qui est responsable des formes graves du paludisme et, d'autre part, principalement la chloroquine qui est le médicament antipaludique le plus utilisé. En outre, de l'étude de l'épidémiologie de la chimiorésistance de *P. falciparum* il ressort que, dans toutes les régions affectées, l'apparition de la chimiorésistance est "inéluçtablement" suivie, plus ou moins rapidement, de sa propagation : augmentation du pourcentage relatif des cas de résistance et du niveau de résistance, rendant la chloroquine inutilisable, et, extension géographique. Par la suite la chimio-résistance s'étend, plus ou moins rapidement, à d'autres antipaludiques usuels, avec apparition de polychimiorésistance.

L'une des approches de la lutte contre la chimiorésistance de *P. falciparum* est l'utilisation judicieuse des antipaludiques disponibles. Celle-ci doit être basée sur l'état de sensibilité, qui est évolutif, des souches locales à la chloroquine et aux autres antipaludiques d'utilisation courante, et même nouveaux.

Depuis 1987, soit trois années après la mise en évidence de la chloroquino-résistance *in vitro* de *P. falciparum* au Sénégal jusqu'en 1994-1995 nous avons régulièrement suivi l'évolution de la sensibilité de cette espèce par des tests *in vivo* à la chloroquine et *in vitro* à la chloroquine, l'amodiaquine, la quinine, la méfloquine. Nous nous proposons de présenter dans ce travail les résultats obtenus qui intéressent la période allant de 1987 à 1995.

Après une première partie consacrée à des rappels relatifs au paludisme, aux antipaludiques testés et à la chimiorésistance de *P. falciparum*, nous aborderons dans une deuxième partie l'étude de la chimiosensibilité de *P. falciparum* à Dakar avant de conclure.

PREMIERE PARTIE

PALUDISME RAPPELS PARASITOLOGIQUE ET CLINIQUE

1. DÉFINITION - GÉNÉRALITÉS

Le paludisme est une maladie parasitaire endémo-épidémique due à l'action pathogène de parasites appelés plasmodiums qui sont des Protozoaires animaux appartenant au phylum des *Apicomplexa*, à la classe des *Sporozoea*, à la sous-classe des *Coccidia*, à l'ordre des *Eucoccidiida*, au sous-ordre des *Haemosporina*, à la famille des *Plasmodiidae* et au genre *Plasmodium*.

Quatre espèces du genre *Plasmodium* sont spécifiques de l'homme. Il s'agit de *P. falciparum* Welch 1897, *P. malariae* Laveran 1881, *P. vivax* Grassi et Felletti, 1890 et *P. ovale* Stephen 1922.

Ces parasites sont transmis à l'homme par la piquûre d'insectes diptères, nématocères appartenant à la famille des *Culicidae* ou Moustiques, à la sous-famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles*. Ce sont exclusivement les femelles d'*Anopheles* qui sont hématophages et donc transmettent la maladie à l'homme.

Le paludisme sévit dans toute la zone intertropicale du globe et existe dans certaines zones subtempérées et même tempérées.

On estime à 2,2 milliards le nombre de sujets exposés au risque d'une infestation palustre soit environ 40 % de la population mondiale répartis essentiellement en Afrique, en Amérique centrale et du Sud et en Asie.

En Afrique tropicale, le paludisme est endémique dans la quasi-totalité des pays. On estime que sur une population exposée de 530 millions d'habitants, 275 millions sont porteurs de plasmodiums ou hématozoaires. Le nombre de cas cliniques annuels dépassent les 100 millions. Le paludisme y tue un enfant sur 20 avant l'âge de 20 ans (115).

la gravité du paludisme en Afrique tropicale est essentiellement liée à la prédominance de *P. falciparum* la plus pathogène des espèces plasmodiales parasites de l'homme qui selon les pays est responsable de 80 % à 100 % des cas d'infestation par des hématozoaires.

Au Sénégal, *P. falciparum* domine largement puisqu'il est pratiquement toujours présent dans les cas cliniques confirmés parasitologiquement soit seul (90 à 100 % des cas) soit associé à *P. malariae* (0 à 10 % des cas) et/ou *P. ovale* (0,1 % des cas).

Par ailleurs, *P. falciparum* est la seule espèce plasmodiale à être concernée par les problèmes de résistance aux antimalariques. C'est pourquoi, c'est elle qui nous retiendra.

2. BIOLOGIE DE *P.falciparum*

2.1. Cycle évolutif

Le cycle de *P. falciparum* comme celui des autres espèces plasmodiales parasites de l'homme commence par l'inoculation des sporozoïtes par l'anophèle femelle au cours d'un repas de sang. Ces sporozoïtes envahissent directement les hépatocytes où s'accomplit une seule schizogonie tissulaire. Chaque sporozoïte se transforme en trophozoïte, forme uninucléée qui va se diviser. Ce qui conduit à un schizonte (plurinucléé), puis à un schizonte mûr ou corps bleu qui est formé de plusieurs mérozoïtes (uninucléés). Les mérozoïtes libérés par suite de la dégénérescence de la cellule hôte vont envahir le sang.

Chaque mérozoïte va pénétrer dans un globule rouge pour y effectuer une schizogonie sanguine ou érythrocytaire. Il se transforme en trophozoïte qui grossit puis se multiplie tout en élaborant un pigment malarique ou hémozoïne, provenant de la digestion de l'hémoglobine. Ce qui conduit à un schizonte puis à un corps en rosace formé d'un grand nombre de mérozoïtes. Le globule rouge parasité éclate et les mérozoïtes vont envahir des globules rouges sains.

Après plusieurs cycles schizogoniques, la schizogonie érythrocytaire s'interrompt mais les parasites peuvent demeurer dans le sang à l'état de repos. Ils pourront reprendre leur multiplication sous l'effet de facteurs mal connus et déterminer des accès dits de reviviscence schizogoniques. Ces accès peuvent s'observer avec *P. falciparum* sur une période ne dépassant

pas 6 à 12 mois après l'infestation et avec *P. malariae* sur une période plus longue. En tout cas pour ces deux espèces les rechutes sont dues à des accès de reviviscences schizogoniques contrairement à *P. vivax* et *P. ovale* dont les rechutes proviennent de mérozoïtes en dormance dans le foie (hypnozoïtes).

Plus ou moins tôt après l'invasion du sang, certains mérozoïtes installés dans les hématies au lieu d'évoluer vers la schizogonie vont se différencier en gamétocytes mâles et femelles, éléments précurseurs des gamètes. Dépouvus de tout pouvoir pathogène pour l'homme, ces gamétocytes sont les seuls éléments aptes à infecter l'anophèle femelle.

Lors de son repas sanguin chez un sujet parasité, l'anophèle absorbe les gamétocytes. Dans la lumière stomacale, le gamétocyte femelle se transforme en macrogamète, et le gamétocytes mâle en plusieurs microgamètes mobiles. Un microgamète pénètre dans un macrogamète ; il en résulte un zygote mobile (ookinète).

L'ookinète va se localiser dans la paroi stomacale. Il divise plusieurs fois son noyau, la première division étant une réduction chromatique, puis son cytoplasme. Ce qui conduit à un sporocyste contenant de nombreux sporozoïtes (40 000 environ). Les sporozoïtes libérés par suite de la rupture de la membrane du sporocyste vont se localiser dans les glandes salivaires de l'anophèle. Ils seront inoculés aux hôtes ultérieurs lors de la piqûre de l'anophèle.

2.2. Caractères biologiques distinctifs

La durée du cycle schizogonique tissulaire est de 6 à 10 jours pour *P. falciparum*., celle du cycle érythrocytaire est de 48 heures. *P. falciparum* est l'agent d'une fièvre tierce maligne.

C'est la seule espèce plasmodiale pouvant être à l'origine de l'accès perniciosus palustre et indirectement de la fièvre bilieuse hémoglobinurique, complications redoutables du paludisme.

Son pouvoir pathogène est redoutable et 90 % des décès dus au paludisme lui sont imputables. Il est capable d'attaquer tous les globules rouges sans distinction d'âges, ce qui explique la grande densité qu'il peut avoir dans le sang. Mais la schizogonie se fait dans les capillaires profonds ce qui engendre la présence uniforme de trophozoïtes dans le sang périphérique.

Sa pathogénicité s'expliquerait par le fait qu'il provoque l'apparition de protubérances à la surface de l'hématie parasitée qui rendent celle-ci adhérente à l'endothélium des capillaires sanguins.

La culture *in vitro* des formes érythrocytaires de *P. falciparum* (formes érythrocytaires) est cultivable *in vitro* par la méthode de Trager et Jensen (146).

3. PALUDISME

3.1. Symptomatologie

Seules les formes asexuées érythrocytaires des Plasmodiums sont responsables des manifestations cliniques.

Trois aspects cliniques sont couramment rencontrés.

3.1.1. Paludisme de primo-invasion

Il survient chez le sujet neuf après une période d'incubation silencieuse de 10 à 20 jours.

Dans sa forme typique, le paludisme de primo-invasion se manifeste par :

- un embarras gastrique fébrile avec douleurs épigastriques, nausées, vomissements, parfois diarrhée.
- une atteinte de l'état général avec asthénie, courbatures, céphalées souvent intenses.

A ce stade l'examen clinique est négatif.

Traité correctement, l'accès guérit en quelques jours. Non traité il peut guérir spontanément ou évoluer sans traitement vers l'accès pernicieux si *P. falciparum* est en cause.

A côté de cette forme, il existe des formes rémittentes qui peuvent aussi guérir spontanément ou évoluer sans traitement vers l'accès pernicieux si *P. falciparum* est en cause.

3.1.2. Accès intermittents palustres

Ils surviennent après l'accès de primo-invasion ou comme accès de rechute. Il peut apparaître brutalement sans accès fébrile initial.

L'accès précédé de prodromes se déroule en trois stades stéréotypés : stade de frisson, stade de chaleur et stade de sueurs.

Il dure environ 10 heures. L'accès peut être du type tierce survenant un jour sur deux ou du type quarte (un jour sur trois).

Lorsque la fièvre tierce est régulière, il s'agit d'une tierce bénigne essentiellement due à *P. vivax* ou *P. ovale* ou *P. falciparum*.

Lorsque la fièvre tierce est irrégulière, il s'agit d'une tierce maligne due à *P. falciparum*.

La fièvre quarte relève de *P. malariae*.

3.1.3. Paludisme viscéral évolutif (P.V.E.)

Le paludisme viscéral évolutif ou paludisme chronique survient chez les sujets soumis à des réinfestations répétées. Il se manifeste par une anémie, une splénomégalie et une hyperthermie modérée (38° C).

Traité, la guérison est obtenue rapidement. Non traité, il peut guérir spontanément ou évoluer vers l'accès pernicieux si *P. falciparum* est en cause.

3.1.4. Complications

Deux complications graves dues à *P. falciparum*

3.1.4.1. L'accès pernicieux palustre

L'accès pernicieux ou neuropaludisme "Cerebral malaria" est la complication majeure du paludisme à *P. falciparum*.

Il peut survenir à tout âge mais en zone d'endémie il est plus fréquent chez l'enfant de 6 mois à 5 ans.

Son début peut être progressif ou brutal et rapidement s'installe la période d'état avec une triade symptomatique : fièvre, troubles neurologiques et manifestations viscérales.

Le tableau est rapidement d'une extrême gravité : il faut traiter d'urgence.

Correctement traité, la guérison survient sans séquelles, non traité l'évolution est fatale en 2 à 3 jours.

3.1.4.2. La fièvre bilieuse hémoglobinurique

La fièvre bilieuse hémoglobinurique est devenue exceptionnelle depuis qu'on n'utilise plus la quinine en chimioprophylaxie du paludisme. Elle survient chez les sujets ayant présenté un paludisme à *P. falciparum* soumis à une chimioprophylaxie à la quinine.

Elle se manifeste par un état de prostration, de la fièvre, des vomissements bilieux. Rapidement un ictère hémolytique apparaît avec anémie, collapsus cardio-vasculaire, oligurie et hémoglobinurie.

Affection très grave, d'un pronostic très sévère, la mort survenant dans 30 % des cas.

3.2. Diagnostic parasitologique

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des hématozoaires par l'examen microscopique d'un frottis sanguin ou d'une goutte épaisse colorés au Giemsa.

La mise en évidence des hématozoaires doit être complétée par la détermination de l'espèce en cause et l'évaluation de la densité parasitaire.

3.3. Traitement

3.3.1. Médicaments disponibles

Le traitement curatif repose sur l'utilisation des schizontocides sanguins, antipaludiques inhibiteurs de la schizogonie érythrocytaire. Les médicaments disponibles sont répartis dans cinq groupes :

- les arylméthanols (Quinine, Méfloquine, Halofantrine)
- les amino-4-quinoléines (Chloroquine, Amodiaquine)
- les antifoliques : sulfones et sulfamides
- les antifoliniques : Proguanil (Paludrine®) et Pyriméthamine (Malocide®)
- les sesquiterpènes lactones : Artémisinine et dérivés.

Il existe aussi des associations de schizontocides utilisables dans le traitement curatif du paludisme :

- association Sulfamide + Pyriméthamine (Fansidar®)
- association sulfone + Pyriméthamine (Maloprim®)
- association d'un antibiotique, une cycline ou la clindamycine, à un autre schizontocide.

3.3.2. Schémas thérapeutiques

Le choix de l'antipaludique à utiliser pour traiter un cas de paludisme dépend de la situation de la sensibilité de *P. falciparum* s'il est en cause, à la chloroquine et aux autres antimalariques dans la zone concernée, du type d'accès (simple, grave, perniciox) et des caractéristiques de l'antipaludique (coût, toxicité). Les indications de divers antimalariques ont été largement discutées par de nombreux auteurs notamment Charmot et Coulaud (33).

Au Sénégal, le traitement de l'accès simple est assuré en première intention avec la chloroquine en cure totale de 25 mg/kg de poids corporel en trois jours ou avec l'amodiaquine. En deuxième intention c'est l'association sulfadoxine-pyriméthamine qui est conseillée ou un aryl-méthanol administrable par voie orale en une à trois prises.

Les accès graves et compliqués relèvent de l'administration de sels de quinine par voie parentérale.

3.3.3. Chimio prophylaxie

La chimio prophylaxie est uniquement réservée aux voyageurs effectuant un séjour de durée limitée dans une zone d'endémie palustre, aux femmes enceintes résidant dans la zone. Le choix de l'antipaludique à utiliser dépend d'une part de la situation de la sensibilité de *P. falciparum* aux antimalariques et, d'autre part, de la simplicité de l'administration du médicament et de son innocuité.

D'une façon générale le médicament le plus utilisé en prophylaxie est la chloroquine seule ou associée au proguanil dans des zones où existent des cas de résistance de *P. falciparum* à la chloroquine mais relativement limités.

Pour les voyageurs allant dans des zones à forte chloroquino-résistance de *P. falciparum*, la méfloquine est conseillée lorsque la durée du séjour en zone d'endémie est de brève durée.

ANTIPALUDIQUES ETUDIÉS : STRUCTURE CHIMIQUE ET DONNÉES PHARMACOLOGIQUES

1. INTRODUCTION

Apparue en 1978 en Afrique de l'Est la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine s'est rapidement étendue vers l'Ouest du continent, atteignant le Sénégal où les premières souches chloroquino-résistantes *in vitro* ont été isolées en 1984-1985. A la même période, la quininorésistance *in vitro* de ce parasite a été observée dans ce pays, indépendamment de la chloroquino-résistance.

Lors d'études effectuées dans certains pays africains, un lien étroit avait été constaté entre la quininorésistance et la chloroquinorésistance. D'autre part, il a été fait état de l'existence de souches de *P. falciparum* résistantes à la fois à la chloroquine et à l'amodiaquine, et de cas de résistance de cette espèce à la méfloquine dans des pays où elle n'a jamais été utilisée (résistance primaire).

C'est pour connaître la situation qui prévaut au Sénégal et notamment à Dakar que nous avons étudié la sensibilité des souches de *P. falciparum in vivo* à la chloroquine et *in vitro* à la chloroquine, à l'amodiaquine, à la quinine, et à la méfloquine.

Nous présentons ci-après ces antipaludiques.

2. CHLOROQUINE

La chloroquine est un schizontocide sanguin à action rapide de la classe des amino-4-quinoléines (Figure I). Elle est utilisée sous forme de sels (sulfate et phosphate) dans le traitement curatif (voie orale et parentérale) et préventif (voie orale) du paludisme.

Après administration *per os* chez l'homme, la chloroquine est rapidement et complètement absorbée par le tractus gastro-intestinal ; sa concentration plasmatique maximale est obtenue en une à deux heures. Elle disparaît rapidement du plasma pour se concentrer dans les tissus. C'est ainsi que sa concentration dans les globules rouges est 10 à 20 fois plus élevée que dans le plasma. La chloroquine est métabolisée dans le foie en quatre dérivés dont le principal est la monodéséthyl chloroquine qui est environ 10 fois moins active qu'elle. La chloroquine est ensuite éliminée de façon importante dans les urines sous forme inchangée, et 23 % sous forme de monodéséthyl chloroquine.

Chez le paludéen, la chloroquine se concentre plus dans les globules rouges parasités (environ 25 fois) que dans les globules rouges sains, si bien que la baisse de la parasitémie diminue les taux intra-érythrocytaires (152). Cependant, les parasites résistants à la chloroquine absorbent moins de chloroquine que les parasites sensibles, car ils présentent un défaut de fixation de ce médicament (161). La concentration sanguine de chloroquine varie également avec l'état nutritionnel. Elle est plus élevée chez l'enfant normal 134 nanogrammes (ng) / millitre (ml) que chez l'enfant dénutri (40 ng/ml) (154).

Le taux sanguin de chloroquine au cinquième jour se situe à 1700 ± 500 nmol/l chez l'ensemble des paludéens, après le traitement standard de l'O.M.S (25 mg/kgp/3j) (91). Avec le même schéma thérapeutique, les taux sanguins à J7 déterminés par chromatographie liquide à haute performance (HLPC) étaient compris entre 271 et 550 ng/ml (moyenne 399 ng/ml) dans six cas de recrudescence (136). Ce qui correspondait à environ 10 fois la concentration minimale plasmatique efficace contre les souches de *P. falciparum* chloroquino-sensibles (136). Par ELISA, les taux enregistrés étaient à J3 de 140 à 560 ng/ml de sang (moyenne $270 \pm 86,5$ ng/ml) chez 51 sujets (10).

Certains produits sont capables, en association avec la chloroquine, de rendre réversible la chloroquinorésistance de *P. falciparum in vitro*. Il s'agit des inhibiteurs calciques (le vérapamil, le diltiazem), des antidépresseurs tricycliques (la désipramine) et des antihistaminiques tricycliques (la cyprohéptadine).

Ainsi, l'adjonction au milieu de culture de *P. falciparum* chloroquino-résistant, de vérapamil ou de diltiazem, à des concentrations qui n'ont aucune activité antipaludique, redonne à la chloroquine son efficacité inhibitrice sur le développement du parasite (40). Basco et collaborateurs (4) avaient testé *in vitro* 14 souches de *P. falciparum* avec la chloroquine seule, et la chloroquine additionnée de désipramine (625 nmol/l). Toutes les souches étaient résistantes à la chloroquine seule (CI50 de 130 à 523 nmol/l). Par contre, elles étaient toutes sensibles à l'association chloroquine-désipramine (CI50 inférieure au seuil de résistance de 100 nmol/l). La CI50 du clone multirésistant FCM 29/ Cameroun, était de 812 nmol/l en présence de chloroquine seule ; elle n'était que de 73 et 43 nmol/l en présence de chloroquine additionnée respectivement de désipramine (2 500 nmol/l) et de cyproheptadine (2 500 nmol/l) (3).

Le vérapamil et le diltiazem agiraient peut-être en inhibant la capacité de *P. falciparum* chloroquinorésistant à chasser la chloroquine de sa vacuole (40).

Les produits inhibiteurs de la chloroquinorésistance de *P. falciparum* pourraient jouer un grand rôle dans le traitement des cas de chloroquinorésistance. Mais l'efficacité thérapeutique et la tolérance de leurs associations avec la chloroquine devraient être prouvées *in vivo* chez l'homme.

Mécanisme d'action de la chloroquine

La physiologie de la nutrition des plamodiums et le mécanisme d'action de la chloroquine ont été revus par divers auteurs (58, 79, 134, 138). Les formes érythrocytaires peuvent se nourrir par phagocytose ou mediated uptake systems. Dans le globule rouge, le *Plasmodium* se trouve dans une vacuole parasitophore entourée par une membrane provenant de la cellule hôte. Il ingère le cytoplasme de la cellule hôte et digère l'hémoglobine dans les vacuoles digestives acides du parasite. Les acides aminés qui en résultent sont utilisés principalement dans la synthèse des protéines. L'hème est oxydée en ferriprotoporphyrine IX, forme ferrique toxique (dommages membranaires, inhibition d'enzymes). Celle-ci est convertie en hémozoïne (pigment malarique) atoxique qui est stockée dans le parasite.

(dommages membranaires, inhibition d'enzymes). Celle-ci est convertie en hémotoïne (pigment malarique) atoxique qui est stockée dans le parasite. Chez *P. falciparum* cette conversion est catalysée par une activité hème polymérase (138).

La chloroquine exerce sa toxicité sélective par un mécanisme de concentration de cette drogue dans les parasites intraglobulaires (vacuoles digestives) à partir du milieu, bloquant ainsi la schizogonie.

Il y a pour la chloroquine plusieurs mécanismes d'action possibles :

- elle bloque la synthèse des acides nucléiques (ARN et ADN) en se fixant par intercalation sur l'ADN du parasite.
- elle bloque la digestion de l'hémoglobine en entraînant une augmentation du pH de la vacuole digestive qui peut entraîner une inhibition de l'activité des protéases acides, du transport intracellulaire des macro-molécules et des mouvements membranaires. Ce qui peut inhiber de façon irréversible la maturation du parasite et donc le tuer.
- elle forme un complexe ferriprotoporphyrine IX- chloroquine qui a un effet toxique membranaire lytique qui tue le parasite.
- elle inhibe l'activité d'enzymes spécifiques: l'hème polymérase, la protéase aspartique de *P. falciparum* (69, 138).

Effets de la chloroquine

La chloroquine est un excellent schizontocide sanguin actif sur les quatre espèces de *Plasmodium*. La fièvre et la parasitémie sont généralement contrôlées dans les 24-48 heures dans le cas d'une souche sensible ; et dans les infections à *P. falciparum* et *P. malariae* une disparition complète des parasites peut être obtenue. La suppression complète des souches sensibles est obtenue avec un taux plasmatique de 5-8 microngammes par litre (79). *In vitro* elle inhibe la maturation des parasites (128).

Elle est inactive sur les formes asexuées intrahépatiques et donc n'entraîne pas une cure radicale du paludisme causé par *P. vivax* et *P. ovale*.

Elle est inactive sur les gamétocytes si bien que ceux-ci peuvent rester infestant pour l'anophèle des mois.

3. AMODIAQUINE

L'amodiaquine est un schizontocide sanguin d'action rapide de la classe des amino-4-quinoléines, qui a une structure de base de Mannich différente de celle de la chloroquine (Figure 1). Elle est utilisée *per os* sous forme de dihydro-chloride.

Après une dose orale de 600 mg (164), l'amodiaquine est rapidement absorbée dans l'intestin, atteignant des pics plasmatiques de 32 ± 3 ng/ml en 0,5 heure. Elle disparaît rapidement du sang, en 2 à 10 heures après l'administration. Elle est rapidement métabolisée dans le foie en trois dérivés la bidéséthyl amodiaquine qui est inactive, l'hydroxy déséthyl amodiaquine peu active et la monodéséthyl amodiaquine principal dérivé qui est très active. Le pic plasmatique de ce métabolite (181 ± 26 ng/ml) est atteint en 3,4 heures ; sa concentration globulaire (561 ± 143 ng/ml) est environ 4 fois celle du plasma ; son élimination est lente, moins de 3 % dans les urines en 24 heures.

In vitro, l'amodiaquine a une activité antipaludique supérieure (1 à 3 fois) à celle de la monodéséthyl amodiaquine (38). Sa supériorité sur les autres amino-4-quinoléines a également été montrée en étudiant la réponse de *P. falciparum* chloroquinorésistant chez le singe *Aotus* (135).

Des cas de toxicité médullaire (neutropénie sévère ou agranulocytose) et hépatique graves parfois mortels, avaient été observés en 1985 chez des européens sous chimioprophylaxie à l'amodiaquine (78, 85) ; ce qui avait entraîné la suspension de l'utilisation prophylactique de cet antipaludique (90).

Aux doses curatives cependant, les effets secondaires sont mineurs. Ainsi, seule une hyperhémie conjonctivale avait été enregistrée à Edea (Cameroun), chez neuf enfants sur 184 traités avec les doses de 35, 27 et 15 mg/kgp (99). A Cotonou (Bénin), avec 35 mg/kgp/3j, l'hyperhémie conjonctivale était l'effet indésirable le plus fréquent en zone urbaine (14,7 % ; 22 sujets), tandis qu'elle était exceptionnelle en zone rurale (124). Dans tous les cas, cet effet secondaire disparaissait spontanément après le traitement (99, 124).

4. QUININE

La quinine est un schizontocide sanguin d'action rapide appartenant à la classe des arylméthanol (Figure I). Elle est utilisée sous forme de sels (bichlorhydrate, bisulfate, sulfate) dans le traitement curatif du paludisme par voie orale et parentérale (intramusculaire et intraveineuse).

Après administration orale, la quinine est rapidement absorbée par l'intestin grêle. Le pic plasmatique est obtenu 2 à 3 heures après l'ingestion (79) ; il se situe à 3 mg/l après l'administration de 1,62 g de quinine en trois doses pendant 3 jours (22). Les pics plasmatiques sont plus élevés par les autres voies : 5 mg/l après injection intraveineuse de 0,49 g de quinine toutes les 8 heures pendant 3 jours, et $11 \pm 1,6$ mg/l après l'injection intramusculaire de 16,7 mg/kgp sous la forme de bichlorhydrate.

La quinine se fixe aux protéines plasmatiques si bien que la fraction libre est faible ($7,5 \pm 2,2$ %). Mais cette fraction libre augmente lorsque le taux de protéines diminue. Les concentrations plasmatiques de quinine sont plus élevées chez le sujet impaludé que chez le sujet sain (21). Cette drogue est moins concentrée dans les globules rouges que dans le plasma.

La quinine est métabolisée dans le foie ; le principal métabolite étant la 2 hydroxyquinine. Son excrétion se fait principalement par voie urinaire. Elle est rapide, maximale 4 heures après l'ingestion et presque complète dans les 24 heures. Seules 10 % de la dose orale se retrouvent sous la forme inchangée.

Elle bloque la synthèse des acides nucléiques en formant un complexe avec les deux brins d'ADN ; ce qui va inhiber la synthèse des protéines. Elle se fixe sur l'hémozoïne et interfère avec l'accumulation de ce pigment.

La quinine est active sur les formes asexuées sanguines des *Plasmodiums*. Elle n'a pas d'effet sur les formes intrahépatiques si bien qu'elle ne peut venir à bout d'une cure radicale du paludisme causé par *P. vivax* ou *P. ovale*. Elle n'est pas effectivement gamétocytocide. La 2 hydroxyquinine a également une activité schizontocide sanguine. Cette activité est 5 à 25 fois celle de la quinine sur *P. lophurae* et *P. gallinaceum* (22).

L'index thérapeutique de la quinine est faible ; les premiers signes d'intoxication peuvent être décelés à des concentrations plasmatiques de l'ordre de 5 mg/l (163). Ainsi en cas de baisse de sensibilité de *P. falciparum* à la quinine, la dose ne peut être augmentée car le risque de toxicité est grand. C'est pourquoi des associations de quinine à dose réduite avec les cyclines ou le 2^e propionate d'érythromycine ont été proposés et utilisés pour traiter les infestations par *P. falciparum* quininorésistant.

La dose létale de quinine chez l'adulte est de 8 grammes.

La quinine n'est pas utilisée pour la chimioprophylaxie du paludisme puisque sa cinétique n'est pas appropriée et l'incidence des effets secondaires élevée. Elle doit être réservée pour le traitement des cas de paludisme sévères et des cas résistants à d'autres antipaludiques.

5. MEFLOQUINE

La méfloquine est un schizontocide sanguin qui a été développé en 1976 pour le traitement et la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum* chloroquino-résistant.

c'est un quinolyl- 4 carbinol (Figure 1) dont la structure chimique est étroitement apparentée à celle de la quinine et ses dérivés.

Elle a été homologuée en Suisse en 1984 sous le nom de marque Lariam[®] qui est le chlorhydrate dosé à 250 mg de base, utilisée chez l'adulte et l'enfant de plus de 2 ans.

La cinétique de la méfloquine a été étudiée chez l'homme. Après une dose orale unique de 250 mg, l'absorption est lente, la concentration maximale plasmatique de 277 à 335 ng/ml étant obtenue en 4 à 12 heures. La demie-vie apparente d'élimination est longue de 15,4 à 23,1 jours et la demie-vie réelle de 11 à 12,3 jours (44). Le produit est fortement lié aux protéines plasmatiques (environ 98 %). La concentration globulaire est environ 2 à 5 fois celle du plasma.

La méfloquine est métabolisée au niveau du foie en plusieurs dérivés dont le principal est un carboxylique métabolite.

L'excrétion est essentiellement biliaire et seuls environ 9,04 % de méfloquine et 4,2 % du carboxylique métabolite sont éliminés dans l'urine.

La méfloquine bloque la synthèse des acides nucléiques des Plasmodiums.

La méfloquine est active sur les formes asexuées sanguines des plasmodiums humains y compris sur la majorité des souches de *P. falciparum* chloroquino-résistantes et polychimiorésistantes ; la concentration plasmatique active est de 0,2 à 0,3 mg/l. Elle est par contre inactive sur les gamétocytes (de *P. falciparum*) et sur les formes tissulaires intrahépatiques. C'est ainsi que l'administration d'une dose orale unique de 1 000 mg de méfloquine à 48 sujets présentant un paludisme à *P. falciparum* en Thaïlande parmi lesquels 5 hébergeaient des gamétocytes, a entraîné un taux de guérison de 100 %. Cependant des gamétocytes étaient présents à J4 et à J28 chez respectivement 16 et l'un d'entre-eux, et des rechutes à *P. vivax* ont été enregistrées à J30 chez 16 d'entre-eux (76).

La méfloquine est 5 à 10 fois plus active que la quinine mais elle agit lentement et doit être administrée oralement (79). Elle est utilisée à la dose unique orale de 250 mg. Cette dose suffit à éliminer le parasite du sang et à atténuer les symptômes avec peu d'effets secondaires importants. Même aux

doses élevées de méfloquine (750 mg et 1 000 mg) les effets secondaires observés sont légers, de courte durée et disparaissent spontanément : nausées, vomissements, diarrhées ; quant aux paramètres biochimiques et hématologiques, ils restent normaux (76).

Le chlorhydrate de méfloquine est indiqué dans le traitement prophylactique du paludisme. Son utilisation est cependant limitée aux voyageurs dans les pays endémiques à haut niveau de chloroquinorésistance et où existe la polychimiorésistance ; cela pour une période n'excédant pas trois mois.

Pour contourner l'induction de la résistance de *P. falciparum* à la méfloquine, une combinaison fixe de méfloquine et de Fansidar® a été développée (Fansimef®). Cette combinaison est réservée au traitement curatif du paludisme à *P. falciparum* chimiorésistant. Elle n'est pas recommandée pour la prophylaxie à cause des réactions secondaires associées à l'utilisation prophylactique de la pyriméthamine et de la sulfadoxine.

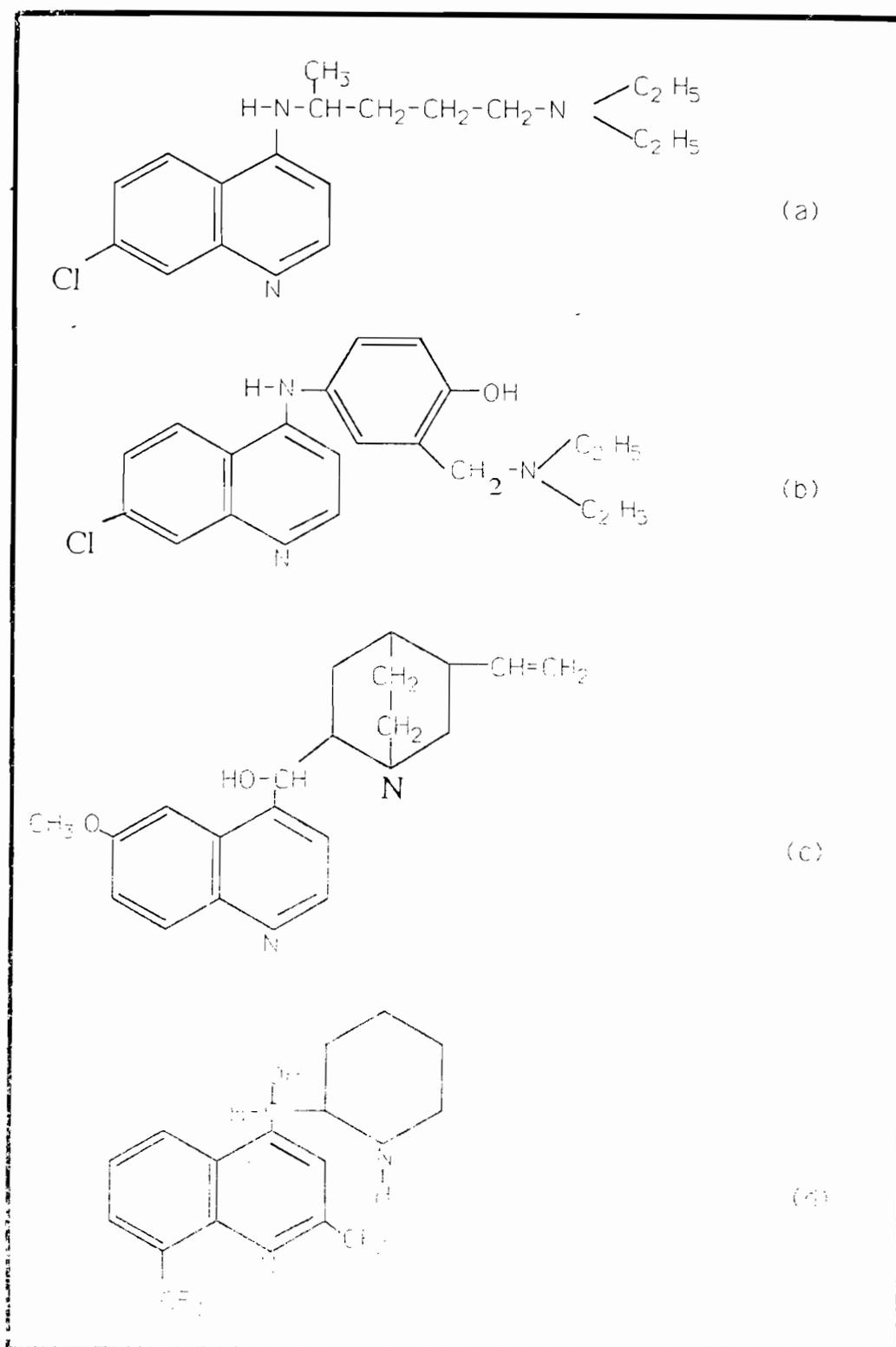


Figure 1. Antipaludiques : Structure chimique.

(a) Chloroquine : 7-chloro-4-(4-diéthylamino-1-méthyl butylamine) quinoléine.

(b) Amodiaquine : 7-chloro-4-(5-diéthylamino-4-hydroxyaniline) quinoléine

(c) Quinine : 3-vinyl-6'-méthoxyrubanol-9

(d) Méfloquine : α -(2-pipéridyl - 2,8 bis (trifluorométhyl))-4 quinoléine méthanol.

CHIMIORESISTANCE DE *P. falciparum*

1. DÉFINITION - GÉNÉRALITÉS

1.1. Définition

"La résistance à un antipaludique c'est l'aptitude d'une souche de parasites du paludisme à survivre et éventuellement à se reproduire, en présence d'un médicament utilisé à des concentrations qui normalement détruisent les parasites de la même espèce ou en empêchent la multiplication. Cette résistance peut être relative (cédant à des doses de médicament plus élevées qui sont cependant tolérées par l'hôte) ou complète (supportant les doses maximales tolérées par l'hôte)" (112). *In vivo* l'antipaludique devra être totalement absorbé et en outre, dans le cas des prodrogues, métabolisé.

1.2. Nature

La nature de la résistance de *P. falciparum* est identique à celle des plasmodiums des Rongeurs. La génétique de la chimiorésistance de ces plasmodiums a été étudiée. Il en résulte que la résistance aux inhibiteurs de la dihydrofolate réductase (pyriméthamine et proguanil) et aux amino-4-quinoléines est due à une mutation spontanée de gènes nucléaires (161). Les gènes pharmacorésistants sont donc très stables en l'absence de la pression d'antipaludique ; une fois établis au stade intra-érythrocytaire asexué, ils persistent à tous les autres stades du cycle évolutif de ces plasmodiums. Ils sont transmis à la descendance selon les lois de Mendel, au cours de la reproduction sexuée chez l'anophèle vecteur (112). Des phénomènes d'hybridation peuvent survenir au cours de cette reproduction lorsque les gamétocytes absorbés par l'anophèle sont génétiquement différents. Ainsi, les sporozoïtes qui en résultent peuvent être génétiquement différents des parasites qui ont infesté l'anophèle (155). En effet, tous les stades évolutifs de ces plasmodiums sont haploïdes (n chromosomes), à l'exception du zygote qui est diploïde ($2n$ chromosomes).

Il a été également montré que le nombre de mutations nécessaires à l'obtention de parasites hautement résistants varie avec l'antipaludique. Avec la pyriméthamine, une seule mutation au niveau du gène codant pour la dihydrofolate réductase suffit : avec la chloroquine par contre, plusieurs mutations sont nécessaires dans le même parasite, chacune d'entre elles conférant un faible degré de résistance. C'est ce qui explique que la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine apparaît lentement contrairement à la résistance à la pyriméthamine.

1.3. Apparition (32)

L'apparition de la chimiorésistance de *P. falciparum* nécessite l'intervention de trois principaux facteurs : le parasite, l'antipaludique et l'hôte humain.

Des études génétiques effectuées sur des isolats de *P. falciparum* (formes asexuées sanguines) de différentes origines géographiques ont montré que l'infestation par *P. falciparum* chez l'homme est généralement mixte, comportant des parasites génétiquement distincts (155, 156). En particulier, ces parasites présentent une grande hétérogénéité dans la réponse à un antipaludique donné ; des parasites sensibles coexistant avec des parasites résistants à des degrés différents (144).

Ainsi, l'utilisation de faibles doses d'antipaludique (doses prophylactiques ou infrathérapeutiques lors d'automédication ou de traitement dans les dispensaires), va sélectionner, chez le malade, des parasites asexués résistants. "La rapidité de cette sélection est directement proportionnelle à la pression médicamenteuse, au nombre de parasites exposés, au taux de mutation chez les parasites..." (112). Elle augmente également avec la longueur de la demi-vie de l'antipaludique utilisé (162). D'autre part, l'apparition de la résistance peut être due à l'existence d'une résistance croisée entre des antipaludiques présentant une parenté structurale ou un mécanisme d'action semblable.

En zone d'endémie palustre, cette sélection va être suivie ou non de l'apparition de la résistance de *P. falciparum* à l'antipaludique, cela dépendant de l'état de l'immunité de prémunition antipalustre du sujet vis-à-

vis de cette espèce. Chez les sujets prémunis, la résistance passe inaperçue ; car les mécanismes immunitaires de l'hôte complètent l'effet de l'antipaludique, intensifiant son action sur la disparition des parasites résistants (136). Cela avait été démontré *in vitro* par Carlin et collaborateurs (26) avec la chloroquine et la méfloquine sur des isolats de *P. falciparum* en provenance du Soudan : le sérum de malades infestés par *P. falciparum* ou celui d'adultes immuns, retardait le développement des parasites en présence ou en l'absence d'antipaludique ; et l'effet de ces facteurs humoraux et celui de la drogue étaient additifs.

Ainsi donc, c'est essentiellement chez les sujets non immuns (sujets neufs arrivant en zone d'endémie et sujets non encore immuns vivant en zone d'endémie) que la résistance à l'antipaludique va se manifester en premier lieu (72). On peut mentionner à cet effet les premiers cas de quininorésistance en Amérique (106, 109) et de chloroquinorésistance en Afrique (25, 52), qui avaient été observés chez des européens y ayant séjourné.

1.4. Propagation (32)

L'apparition de la résistance de *P. falciparum* à un antipaludique dans une zone endémique donnée est «inéluçtablement» suivie par sa propagation (augmentation de sa fréquence et du niveau de résistance), si aucune mesure de lutte n'est entreprise. Cette propagation est en effet avant tout liée à des facteurs biologiques : au cycle évolutif du parasite ; et aux fondements génétiques de la chimiorésistance des plasmodiums des Rongeurs et à l'aptitude des gènes chimiorésistants à se recombinaer, qui ont été extrapolés à *P. falciparum* . Mais la rapidité de cette propagation est liée à d'autres facteurs, essentiellement épidémiologiques, qui sont intimement liés. Ils sont relatifs à l'hôte humain, à l'anophèle vecteur et à la manière d'utilisation des antipaludiques. L'un des pires facteurs est la pression médicamenteuse (122) que nous avons déjà mentionnée. Les autres principaux facteurs sont les suivants :

a) - La présence d'une population non immune ou faiblement immune : c'est la population à haut risque pour la morbidité et la mortalité liées au paludisme, donc le groupe cible pour le traitement et la prophylaxie de cette

maladie. C'est donc principalement sur elle que va s'exercer la pression sélective d'antipaludique (chloroquine notamment). Cette dernière va conduire à des cas de paludisme à *P. falciparum* chimiorésistant (avec ou sans accès), avec l'apparition de gamétocytes porteurs de gènes chimiorésistants, source de contamination des anophèles vecteurs.

La composition de cette population varie avec le niveau de l'endémie palustre. Dans les zones de forte transmission où l'immunité de prémunition s'acquiert très tôt, elle est représentée par les nourrissons et les jeunes enfants (105). En zone de faible transmission où l'immunité s'acquiert très lentement, ou pas du tout (7), elle est plus importante, concernant en outre les grands enfants et les adultes.

b) - La densité anophélienne vectrice : la transmission des parasites chimiorésistants dans la population humaine étant assurée par les anophèles, la propagation de la résistance va augmenter avec la fréquence des contacts homme-anophèles. C'est ainsi qu'en Afrique centrale, "région où la transmission du paludisme est la plus intense du monde", une prévalence élevée de chloroquinorésistance avait été observée l'année même de son apparition.

Les anophèles interviennent en plus dans l'augmentation du niveau de chloroquinorésistance : lors de la transmission par l'anophèle de parasites génétiquement différents, avec des gènes chloroquinorésistants, il peut arriver, grâce au phénomène d'hybridation, que plusieurs de ces gènes se retrouvent chez le même parasite, lui conférant ainsi un degré de résistance élevé. Ils interviennent également dans l'apparition de polychimiorésistance, toujours par le phénomène d'hybridation.

c) - l'avantage biologique des souches chloroquinorésistantes sur les souches chloroquinosensibles : cela a été démontré dans le cycle érythrocytaire pour les souches chloroquinorésistantes de *P. chabaudi* chez la souris et de *P. falciparum* en culture. D'autre part, une fois devenues chloroquinorésistantes, les plasmodies, si elles sont de nouveau exposées à la chloroquine peuvent provoquer des infestations plus fortes chez le moustique. Ce qui augmenterait la capacité vectorielle, donc la propagation de la résistance, même en zone de faible transmission du paludisme. Pour

Wernsdorfer (162) cependant, il semble que cette transmission sélective des parasites résistants soit plutôt due au fait que les parasites sensibles ont disparu sous l'effet de l'antipaludique.

d) - Les mouvements de populations (professionnels, touristiques, ou suite à des catastrophes et révoltes dans les pays tropicaux) vers les zones d'endémie palustre : ils jouent un important rôle dans la propagation géographique de la chimiorésistance de *P. falciparum*. Cette propagation se fait selon deux modalités. Le déplacement de porteurs de gamétocytes avec des gènes chimiorésistants dans une telle zone, en période de transmission du paludisme, va permettre l'apparition de la résistance dans la population autochtone non immune. Ce phénomène avait été observé sous forme épidémique en Iran et aux Emirats Arabe Unis d'après Wernsdorfer (162).

La migration d'une population non immune dans une zone de haute endémie palustre où circulent des parasites résistants, va permettre l'apparition de la résistance au sein de cette population. C'est ce phénomène qui est à l'origine de l'émergence de la résistance aux amino-4-quinoléines dans le sud-est asiatique et dans le nord de l'Amérique du Sud d'après Gentilini (67).

Il s'agit là, mis à part l'avantage biologique, de facteurs épidémiologiques locaux qui varient donc d'une zone à l'autre. C'est pourquoi, la résistance de *P. falciparum* à un antipaludique (chloroquine notamment) dans un territoire donné, n'est donc pas répartie de façon "homogène et continue", mais s'exprime en «foyers dispersés d'intensité variable» (prévalence et niveau de résistance). Ceci avait été constaté avec la chloroquine lors d'études menées dans différentes zones climatiques, à Madagascar (125), au Zaïre (119), en Guyane (56) et plus récemment en Gambie (100).

2. MÉTHODES D'ÉTUDE DE LA CHIMIOSENSIBILITÉ DE *P. falciparum*

L'étude de la chimiosensibilité de *P. falciparum* chez l'homme, qui concerne principalement les schizontocides sanguins à l'heure actuelle, peut être effectuée par des méthodes *in vivo* et *in vitro*.

2.1. Méthodes *in vivo*

Le principe consiste à administrer au sujet parasité par des trophozoïtes de *P. falciparum*, à l'exception de toute autre espèce plasmodiale une dose curative du schizontocide à tester, puis à évaluer dans le temps, l'effet du médicament sur la réduction et la disparition de la parasitémie.

Les méthodes O.M.S. (165) constituent les méthodes de référence et sont de loin les plus utilisées.

Le médicament est administré *per os* à une dose standard qui dépend de l'antipaludique à tester. Pour la chloroquine et l'amodiaquine cette dose est de 25 mg/kgp répartie en trois jours consécutifs en raison de 10 mg/kgp le premier jour ou J0, 10 mg/kgp le deuxième jour ou J1 et 5 mg/kgp le troisième jour ou J2. Pour la quinine elle est de 8 mg/kgp toutes les 8 heures pendant huit jours.

La parasitémie est déterminée sur la goutte épaisse. Pour cela, les parasites sont comptés en regard de 1 000 globules blancs ; la parasitémie est ensuite calculée sur la base de 8 000 globules blancs par mm³ de sang. Lorsque les parasites sont incomptables sur la goutte épaisse (densité élevée), leur numération est faite sur le frottis en examinant 100 champs microscopiques, soit environ 20 000 globules rouges. La parasitémie, représentée par le nombre de globules rouges parasités par des trophozoïtes par mm³ de sang est déterminée sur la base de 5 millions de globules rouges par mm³ de sang.

Selon la durée de suivi on distingue deux méthodes :

- le test prolongé de l'OMS où la parasitémie est évaluée sur une période de 29 jours, quotidiennement de J0 à J7, puis à J14, J21 et J28 (29^e jour).
- le test standard où la parasitémie est déterminée quotidiennement pendant 8 jours, de J0 à J7.

L'interprétation des résultats est basée sur deux paramètres principaux à savoir, le jour de la disparition des trophozoïtes et le taux de réduction de la parasitémie après le traitement, par rapport à la parasitémie de J0 (trophozoïtes). Cinq types de réponses à la chloroquine ont été définies :

- sensible : disparition des parasites à J7 au plus tard, sans recrudescence à J14, J21 et J28
- résistance de niveau RI tardif : disparition des parasites à J7, suivie d'une recrudescence à J14, J21 ou J28
- résistance de niveau RI précoce : disparition des parasites avant J7, suivie d'une recrudescence à J7
- résistance de niveau RII : absence de disparition des parasites, mais réduction importante de la parasitémie
- résistance de niveau RIII : aucune réduction appréciable de la parasitémie n'est observée.

Le test prolongé permet d'identifier les cinq types de réponses et le test standard toutes les réponses sauf les réponses sensibles et le niveau RI tardif.

Il existe des variantes des méthodes O.M.S.

- les variations portent surtout sur la période de suivi de la parasitémie qui est écourtée et sur le nombre des contrôles qui est diminué. Ceci pour parer au suivi quotidien qui est difficile à accepter par les populations en zone d'endémie (72). On peut mentionner à titre d'exemple les tests de 15 jours avec des contrôles à J0, J7 et J14 (157) et tous les deux jours jusqu'à J14 (65, 72, 74, 116, 118, 125). Ces variantes ne permettent cependant pas une détermination précise du jour de la disparition des parasites, et des recrudescences plus tardives.

- L'amodiaquine est parfois utilisée à la dose de 35 mg/kgp en raison de 15 mg/kgp le premier jour, 12 mg/kgp le deuxième jour et 8 mg/kgp le

troisième jour (99, 124). Cette dose serait plus sûre que la dose standard de l'O.M.S pour témoigner de l'efficacité de l'ama-diaquine (91).

- La numération des parasites est parfois effectuée sur frottis en examinant 100 champs microscopiques soit environ 20 000 globules rouges (Baudon et coll. 1985). Mais le seuil de détection des parasites par cette méthode est 10 fois plus grand que celui du tests O.M.S, car 100 champs sur le frottis correspondent à 10 champs sur la goutte épaisse. Ce qui correspond à une sensibilité plus faible.

Les inconvénients des méthodes *in vivo* sont décrits par Le Bras et Savel (91). Il s'agit de :

- la nécessité d'examiner plusieurs fois le sujet
- la difficulté d'interprétation des résultats en zone d'endémie. La réponse RI tardive peut correspondre à une réinfestation, car la période d'incubation de *P. falciparum* est de 9 à 14 jours. D'autre part la réponse *in vivo* correspond, chez les sujets semi-immuns, à la "somme" de la réponse du parasite à l'antipaludique testé et de l'effet des mécanismes de défense de l'hôte.
- l'existence de fausses résistances liées à des taux sanguins de l'antipaludique inférieurs au seuil d'activité. C'est le cas lorsque le médicament est sous-dosé, ou lorsqu'il est incomplètement absorbé par suite de vomissements précoces ou d'accélération du transit (163). D'où la nécessité d'évaluer, après le traitement, le taux d'antipaludique dans le sang ou les urines.

2.2. Méthodes *in vitro*

"Les méthodes *in vitro* permettent en principe une détermination objective de la sensibilité de *P. falciparum* à tous les schizontocides sanguins agissant directement" (159, 161). Elles sont en effet peu ou pas influencées par l'immunité contrairement aux méthodes *in vivo*. En zone d'endémie, elles permettent donc de détecter la chimiorésistance de *P. falciparum* à son émergence. On distingue les anciennes et les nouvelles méthodes.

2.2.1. Anciennes méthodes

Ce sont des macrométhodes qui utilisent du glucose comme milieu d'incubation.

Le sang total prélevé chez le sujet présentant des trophozoïtes de *P. falciparum* est additionné de glucose à la concentration finale de 5 ‰ puis incubé en présence de concentrations croissantes de l'antipaludique à tester, comparativement à un témoin sans antipaludique. On évalue ensuite au microscope sur gouttes épaisses, l'effet inhibiteur des différentes concentrations sur la maturation des trophozoïtes en schizontes à trois noyaux ou plus car les parasites sont synchrones dans le prélèvement de sang.

L'interprétation des résultats est basée sur la concentration minimale d'antipaludique inhibant complètement de la maturation en schizontes (CMI).

Deux macrotests ont été décrits :

a) - Le macrotest de Rieckmann (128)

Première technique à être utilisée sur le terrain ce test est une modification de la technique décrite par Bass et Johns (5). Elle emploie 1 ml de sang défibriné par concentration. L'incubation est faite à l'étuve à 38° 5 - 40° C pendant 24 heures. Les schizontes sont comptés sur les gouttes épaisses comparativement à 100 parasites asexués.

Avec ce test la CMI de la souche de *P. falciparum* chloroquino-sensible "Uganda I" était de $0,5 \times 10^{-9}$ mole de chloroquine base par millilitre (ml) de sang. Celle de la souche chloroquinorésistante "Malayan Camp" était de 3×10^{-9} mole/ml de sang.

b) - Le macrotest OMS (166).

C'est le macrotest de Rieckmann standardisé pour tester la chloroquine et la méfloquine. Il a été largement utilisé (6). Il emploie des flacons

prédosés en antipaludiques. L'incubation est faite à 38°5 C pendant 24 à 28 heures.

D'après Wernsdorfer et Kouznetsov (161) une CMI de 1 nanomol (nmol) de chloroquine/ml de sang correspond à une souche sensible. Une maturation en schizontes à 1,5 nmol/ml de sang est indicatrice de résistance, et à 2,5 nmol/ml de sang, de résistance RII ou RIII généralement. Cependant les résultats des tests *in vitro* ne permettent pas de définir le degré de résistance.

Ces macrométhodes ont l'inconvénient d'utiliser une quantité importante de sang. Il faut au moins 10 ml de sang par antipaludique pour tester une souche. En outre le sang doit contenir une prédominance de trophozoïtes âgés de *P. falciparum* (160) ; en effet ce sont ces formes qui sont capables d'évoluer en schizontes à trois noyaux ou plus en 24 heures d'incubation. C'est pourquoi ces méthodes ont été remplacées par de nouvelles méthodes.

2.2.2. Nouvelles méthodes

Elles sont basées sur le principe de la culture continue de *P. falciparum* (formes érythrocytaires) qui a été mise au point par Trager et Jensen (146) et par Haynes et collaborateurs (1976). Brièvement, cette culture est réalisée dans un milieu liquide synthétique (RPMI tamponné) qui est enrichi en sérum humain non immun (10 % environ). Les globules rouges parasités sont mis en suspension dans ce milieu à un faible hématocrite (environ 10 %). L'incubation est faite à l'étuve à 37° C dans une atmosphère enrichie en gaz carbonique (95 % air et 5 % CO₂) qui est obtenue dans un dessiccateur avec bougie ou dans un incubateur à CO₂. Selon le mode d'évaluation utilisé, on distingue des méthodes microscopiques ou isotopiques.

2.2.2.1 Méthodes microscopiques

On distingue deux types :

a) Les méthodes à court terme : elles évaluent l'effet inhibiteur de différentes concentrations de l'antipaludique sur la maturation des trophozoïtes en schizontes, comme dans les macrométhodes. Elles dérivent toutes de la microméthode de 24 heures décrite par Rieckmann et collaborateurs (129) pour tester la sensibilité de *P. falciparum* provenant de singe *Aotus*.

Le Microtest (160)

C'est une méthode standardisée qui utilise des plaques prédosées avec l'antipaludique (96 puits) et du sang capillaire hépariné. Chaque puits reçoit 50 μ l de la suspension globulaire parasitée à 5 % hématoците dans le milieu RPMI. Après une incubation de 24 à 26 heures à 37° C, les schizontes sont comptés sur gouttes épaisses colorées au Giemsa en regard de 200 parasites asexués.

Une CMI de chloroquine base de $1,14 \times 10^{-6}$ mole/litre (l) de sang (5,7 picomoles/puits) indique une réponse sensible au traitement standard de chloroquine. Une maturation à $1,6 \times 10^{-6}$ mole/l de sang ou plus indique une résistance de *P. falciparum* à la chloroquine. Avec la méfloquine, une concentration de $0,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang (4 pmoles/puits) inhibe normalement la maturation en schizontes, d'après les résultats préliminaires.

- Microtest O.M.S (113, 114)

C'est le microtest (160) qui a été standardisé. Il utilise des plaques prédosées qui sont actuellement commercialisées (chloroquine, amodiaquine, quinine, méfloquine et association sulfadoxine-pyriméthamine). Pour les seuils de résistance, voir le chapitre matériel et méthodes.

Les résultats sont exprimés en CMI et pour les données groupées en concentrations entraînant une inhibition de 50 % (CI50), de 90 % (CI90) et de 99 % (CI99) de la maturation en schizontes, qui sont obtenues par une régression linéaire : dose logarithmique en fonction du pourcentage d'inhibition en probits (70).

Le test est considéré comme valable pour une souche donnée, si le nombre moyen de schizontes (moyenne arithmétique) obtenu avec les témoins des quatre antipaludiques est supérieur ou égale à 20 schizontes pour 200 parasites asexués.

L'interprétation des résultats est basé sur la CMI de l'antipaludique évalué. Lorsqu'elle est inférieure ou égale au seuil de résistance, la souche est dite sensible à l'antipaludique ; lorsqu'elle est supérieure à ce seuil, la souche est résistante. Les seuils de résistance pour les antipaludiques étudiés sont portés en bas du tableau 3.

L'inconvénient de ces tests de 24-26 heures réside dans le fait qu'ils ne permettent pas de tester les souches dans le cas où elles sont constituées en majorité de jeunes trophozoïtes qui ne disposent pas de suffisamment de temps pour donner des schizontes. Ces souches sont fréquemment rencontrées au cours du paludisme symptomatique (accès). C'est pourquoi, certains chercheurs tout en utilisant les plaques O.M.S prolongent l'incubation à 30 heures (72, 74) ou à 36 heures (80) et même plus.

- Le semi-microtest microscopique (87).

il utilise des plaques pré-dosées en antipaludique de 24 puits et des globules rouges parasités lavés en suspension dans le milieu RPMI additionné de 10 % de sérum en vue d'un hématocrite à 5 %. Chaque puits reçoit 700 μ l de suspension globulaire. Après 24 ou 48 heures d'incubation les schizontes sont comptés en regard de 100 ou 200 parasites asexués. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer aussi bien aux souches formées de trophozoïtes âgés que jeunes.

b) Les méthodes à long terme

Elles utilisent des souches de *P. falciparum* après adaptation en culture. Les parasites de culture étant asynchrones c'est-à-dire contenant des trophozoïtes, des schizontes et des mérozoïtes, ces méthodes apprécient, sur frottis, l'effet de différentes concentrations d'antipaludiques sur la disparition des parasites, comparativement à un témoin (RPMI) sans antipaludique.

Ces méthodes sont surtout indiquées pour les antibiotiques à action lente tels que les macrolides et les cyclines et pour les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase. Ces derniers n'empêchent en effet pas la maturation des trophozoïtes en schizontes, mais empêchent la réinvasion des hématies par les mérozoïtes.

De nombreuses méthodes de 48 heures ont été décrites pour la chloroquine (25, 107, 108) et la pyriméthamine (108). Il existe également des méthodes de 72 heures (145).

Ces méthodes présentent un certain nombre d'inconvénients : utilisant une culture continue de *P. falciparum*, ces méthodes sont limitées à des laboratoires spécialisés. De plus, la plupart d'entre elles nécessitent le changement du milieu de culture et de l'antipaludique toutes les 24 heures. D'autre part, les résultats obtenus avec ces méthodes doivent être interprétés avec précaution car l'adaptation en culture peut éliminer sélectivement des parasites de la population originelle (161) et modifier ainsi la chimio-sensibilité *in vitro* des isolats de *P. falciparum* (86).

2.2.2.2. Méthodes isotopiques

Elles mesurent l'effet inhibiteur de concentrations croissantes d'antipaludique, sur l'incorporation par les parasites d'un précurseur métabolique radiomarqué, comparativement à un témoin (RPMI) et à des globules rouges sains. C'est généralement l'hypoxanthine tritiée (3H-hypoxanthine) qui est utilisée.

Ces méthodes sont plus sensibles que les méthodes microscopiques et sont en outre plus reproductibles. Mais elles se limitent à des laboratoires spécialisés car nécessitant un compteur isotopique. Les tests peuvent cependant être faits sur le terrain jusqu'au stade de disques séchés qui sont ensuite transportés à un laboratoire central pour le comptage de la radioactivité (159). De nombreuses méthodes de 24 à 48 heures ont été décrites.

- La méthode de Desjardins et collaborateurs (42)

C'est la première méthode décrite et l'une des plus utilisées. C'est une microméthode semi-automatique utilisant *P. falciparum* en culture continue. Le volume final dans les puits est de 250 μ l (contenant 0,5 μ Ci/puits) dont 200 μ l d'une suspension de globules rouges parasités à 1,5 % hématoците dans le RPMI-sérum. La durée totale de l'incubation est de 44 à 48 heures. On détermine la dose inhibitrice 50 % (ID50) par une régression non linéaire.

Cette méthode a été adaptée à des souches sauvages de *P. falciparum* en culture par Childs et collaborateurs (34) pour tester la chloroquine, la quinine, la méfloquine et l'halofantrine.

- Le microtest de Druilhe et collaborateurs (46)

Le volume final par puits est de 50 μ l à 5 % d'hématoците. La durée de l'incubation est de 48 heures. L'interprétation des résultats est basée sur la CI50 qui est obtenue par une régression linéaire.

La limite du seuil de résistance pour la chloroquine est une CI50 entre 80 et 100 nmol/l de milieu. Pour la quinine une CI50 supérieure à 350 nmol/l de milieu correspond à une baisse de sensibilité.

- Le microtest de Brandicourt et collaborateurs (14)

C'est le microtest O.M.S couplé à un marquage à l'³H-hypoxanthine. La durée totale de l'incubation en présence d'³H-hypoxanthine est de 26 heures. Les résultats sont interprétés comme dans la méthode de Druilhe et collaborateurs (46).

Cette méthode a l'avantage d'utiliser directement le sang parasité sans lavage préalable ; ce qui facilite son utilisation sur le terrain. Cependant, elle ne semble pas très indiquée dans le cas des souches avec de jeunes trophozoïtes du fait de la courte incubation (26 heures). C'est probablement pourquoi elle a été supplantée par la méthode de 48 heures (17).

- Le semi-microtest isotopique (88)

C'est le semi microtest microscopique couplé à un marquage à l'hypoxanthine tritiée. Chaque puits reçoit 700 μ l de suspension globulaire parasitée, à 2,5 % hématocrite ; La durée de l'incubation est de 42 heures. C'est une méthode standardisée largement utilisée. Les CI50 et CI90 sont déterminées par une régression linéaire. Les CI50 évocatrices de résistance sont : de 90-120 nmol/l de milieu pour la chloroquine, supérieures ou égales à 500 nmol/l de milieu pour la quinine, et supérieures à 90 nmol/l de milieu pour la monodéséthyl amodiaquine. Concernant la méfloquine, le seuil de résistance n'était pas encore déterminé. Mais d'après Le Bras et Savel (91) qui avaient utilisé la même méthode, les souches de *P. falciparum* dont la CI50 de méfloquine est supérieure à 60 nmol/l de milieu sont considérées comme résistantes.

2.2.2.4. Avantages des nouvelles méthodes (court terme)

- Elles utilisent de faibles quantités de sang ; ce qui permet de tester simultanément plusieurs antipaludiques.

- Elles permettent en principe une détermination objective de la sensibilité de *P. falciparum* à tous les schizontocides sanguins agissant directement (159, 161). En effet, elles sont peu (26) ou pas influencées par l'immunité : les tests étant réalisés à un faible hématocrite et, dans certaines méthodes, après le lavage des globules rouges qui, comme l'ont souligné Le Bras et Savel (91), a l'avantage d'éliminer les anticorps et les globules blancs. Elles permettent donc en zone d'endémie palustre, chez les sujets semi-immuns, de détecter la chimiorésistance de *P. falciparum* à son émergence, contrairement aux tests *in vivo*.

- Il est possible de différer le test car le sang parasité peut être conservé avant la réalisation des tests : trois heures à 37° C à 5 % hématocrite dans le RPMI tamponné (160), 24 à 48 heures à +4° C du sang total hépariné, cinq à sept jours à 2 - 8° C sur ACD (acide citrique-dextrose) ou sur CPD (91) ; et parfois même dans l'azote liquide (34) avec cependant dans ce dernier cas, un risque de sélection des parasites chimiorésistants (86).

3. SITUATION ACTUELLE DE LA CHIMIORESISTANCE DE *P. falciparum*

3.1. Introduction

Nous examinons ici des aspects relatifs à l'évolution de la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques que nous avons testés, en l'occurrence la chloroquine, l'amodiaquine, la quinine et la méfloquine, principalement en Afrique, tout en précisant les principaux facteurs qui seraient impliqués dans l'apparition et l'extension de cette résistance.

3.2. Chloroquine

3.2.1 Asie et Amérique

La résistance de *P. falciparum* à la chloroquine a été reconnue pour la première fois en 1961 en Colombie par Moore et Lanier (104), dans deux cas de paludisme en provenance de ce pays, et en 1962 en Thaïlande par Harinasuta et collaborateurs (75). Jusqu'en 1970 elle est restée confinée à ces deux pays et aux pays voisins (161). Ensuite elle s'est progressivement étendue respectivement en Amérique du Sud Est et à l'Asie du Sud-Est, centrale et occidentale, suite au relâchement des mesures de lutte antivectorielle.

Dans toutes les régions affectées, la prévalence des infestations à *P. falciparum* chloroquinorésistant de même que le niveau de résistance avaient régulièrement augmenté. Le phénomène était plus marqué en Asie du Sud-Est (Laos, Vietnam et Thaïlande), et dans certaines zones du Brésil, où la majorité des souches étaient résistantes et les niveaux RII et RIII étaient les plus fréquents (161).

En 1990, tous les territoires et pays endémiques à *P. falciparum* étaient affectés par la chloroquinorésistance à l'exception de l'Amérique centrale, d'Haïti et de certaines parties de l'Asie occidentale (162).

L'utilisation du sel de cuisine chloroquinisé (0,33 %), dans le cadre de projets de contrôle du paludisme peut être considérée comme étant le

principal responsable de l'apparition des deux foyers primaires de chloroquinorésistance en Amérique et en Asie. Celle-ci avait été pratiquée au Brésil de 1952 à 1961, avec une grande envergure à partir de 1959 ; elle avait intéressé durant cette courte période et pendant 30 mois, 2 500 000 personnes qui avaient ingéré une dose journalière de chloroquine base d'environ 25-30 mg d'après Payne (120). Pour la seule année 1961 et dans le même pays, 84 tonnes de chloroquine avaient été utilisées dans le sel de cuisine (112).

Un projet de sel chloroquinisé avait également été appliqué au Cambodge en 1961-1962, chez 20 000 personnes pendant 18 mois (120).

3.2.2 Afrique

3.2.2.1. Afrique de l'Est

Les premiers cas africains de chloroquinorésistance, tous de niveau RI tardif, avaient été observés sur la côte Est du continent chez des touristes qui y avaient contracté le paludisme : un cas au Kenya à la fin de 1977 (52) et trois cas en Tanzanie dont l'un avait été confirmé *in vitro* (25). Cette résistance avait été ultérieurement constatée *in vivo* et *in vitro* chez des sujets non immuns sous prophylaxie bien dosée à la chloroquine, en provenance du Kenya (57) et de la Tanzanie (57, 143), puis chez des autochtones en provenance de Tanzanie (136).

Après s'être propagée avec présence des niveaux de résistance RII et RIII en Tanzanie (105, 133, 136) et au Kenya (16), la chloroquinorésistance avait gagné le Burundi (39), le Soudan, le Rwanda, le Zaïre puis l'Angola et la Namibie (122). Madagascar (125) et les Iles Comores étaient également concernés par la résistance de *P. falciparum* à cet antipaludique.

3.2.2.2. Afrique centrale

C'est en 1985 que la résistance *in vivo* de *P. falciparum* à la chloroquine est apparue en Afrique centrale. Des enquêtes réalisées auparavant avec cet antipaludique n'avaient enregistré en 1983 qu'une baisse de sensibilité au Gabon et l'isolement en 1985 de quelques souches

chloroquinorésistantes, dans le même pays (deux souches) et au Cameroun (trois souches) (47).

Dès 1985, "la résistance *in vivo* revêtait une forme épidémique avec des niveaux d'emblée élevés". C'est ainsi qu'en France, la même année, huit cas de chloroquinorésistance tous confirmés *in vitro* avaient été observés chez des voyageurs non immuns : quatre (RII et RIII) en provenance du Congo et du Gabon (47) et quatre du Gabon (Libreville et Franceville) dont deux neuropaludismes avec un décès (137). D'autre part, la résistance à la chloroquine était présente en 1985-1986 à des taux de prévalence élevés *in vivo* et *in vitro* dans plusieurs pays d'Afrique centrale dans les grandes villes en milieu urbain. C'était le cas au Cameroun en zone forestière, à Kribi et Limbe (18, 47) au Gabon (127), au Congo à Brazzaville (90, 111) et au Zaïre à Kinshasa (119). A la même période par contre, cette résistance était modérée dans d'autres villes enclavées du Cameroun et absente dans trois autres régions du Zaïre (119).

A partir de 1985, la chloroquinorésistance avait augmenté progressivement comme cela avait été noté au Congo en 1987 et en 1989 (15, 27).

3.2.2.3. Afrique de l'Ouest

Les premiers cas de chloroquinorésistance confirmés *in vitro* avaient été mis en évidence en France en 1985, chez des voyageurs en provenance du Bénin (90). Ils avaient été confirmés chez sept voyageurs ayant séjourné à Cotonou en septembre 1986. Auparavant lors d'enquêtes effectuées entre 1980 et 1986 dans divers autres pays d'Afrique de l'Ouest, la chloroquine s'était révélée très active sur *P. falciparum in vivo* au Nigéria à Ibadan et au Burkina Faso (1, 153, 6). Il en était de même *in vitro* au Libéria à Yekepa (12) et au Sénégal (14, 91). Seuls de rares cas de chloroquinorésistance avaient été observés : deux *in vivo* au Nigéria et au Ghana non confirmés *in vitro* (49) et quatre *in vitro* au Burkina Faso et au Sud du Sénégal (6, 47).

Cette résistance s'était par la suite propagée au Bénin et dans les pays limitrophes mais de façon hétérogène. C'est ainsi qu'en 1987, des taux de prévalence (*in vitro* et/ou *in vivo*) et un niveau de résistance élevé (RII)

avaient été enregistrés dans la ville de Cotonou (36, 72). Ces taux étaient par contre faibles à Zou ville située à environ 200 km de Cotonou (36), à Sokode, ville intérieure du Togo (65, 73) et au Nigeria (130), et modérés en Côte d'Ivoire à Abidjan en 1988 (83, 121).

Concernant l'Afrique de l'Ouest sahélienne, la chloroquine y était encore active sur *P. falciparum* jusqu'en 1987-1988. Aucun cas de résistance n'avait été constaté *in vivo* et *in vitro* au Niger à Niamey, au Mali à Bamako et au Sénégal à Thiès (64, 117, 118). Seule une souche résistante avait été isolée à Ouagadougou (Burkina Faso) tandis que la réponse *in vivo* à la chloroquine était sensible (116).

L'apparition de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine dans cette région peut être située à la fin de l'année 1988. C'est à cette période en effet que trois cas de paludisme à *P. falciparum* résistant (confirmés *in vitro*) avaient été observés en France chez des voyageurs non immuns sous prophylaxie correctement dosée à la chloroquine : un en provenance du Tchad (132) et deux dont un grave en provenance du Sénégal (11, 92). Ces cas avaient été confirmés la même année au Sénégal par Trape et collaborateurs (147) lors d'une étude menée à Dakar, puis en Gambie par Menon et collaborateurs (100). Des cas sporadiques de résistance avaient été par la suite notifiés en Guinée Bissao (9), au Sénégal (61, 148), au Niger (60).

3.2.2.4. Facteurs d'apparition et d'extention de la chloroquinorésistance en Afrique

Par rapport à l'Asie et à l'Amérique, la chloroquinorésistance est apparue tardivement en Afrique. Cela probablement à cause de la faible pression de chloroquine exercée sur le parasite dans ce continent durant les années 1960. En effet, d'après Payne (120), ce n'est qu'à partir de 1961 que le projet de sel chloroquinisé a été appliqué en Tanzanie à Mto Wa Mbo. D'autre part seules 2 200 à 3 000 personnes avaient été protégées au cours de ce projet, mais de façon irrégulière, pendant seulement 12 mois et sur une longue période allant de 1961 à 1972 (120).

L'apparition de la chloroquinorésistance en Afrique de l'Est serait ainsi liée à la prophylaxie à la chloroquine qui commença en 1969 et augmentée au milieu des années 1970. En revanche, l'extension de la chloroquinorésistance dans ce continent avait été rapide d'Est en Ouest. En effet *P. falciparum* y est l'espèce dominante et la transmission du paludisme y est intense, intéressant aussi bien les zones urbaines que les zones rurales ; il semble qu'en Afrique tropicale un sujet subisse entre 200 et 300 parfois 1 000 piqûres intestines anophéliennes par an (51) dans certaines zones.

En outre, la pression de chloroquine avait été maintenue dans les années 1980 par le biais de la prophylaxie et du traitement présomptif du paludisme. Il avait été fait état de l'utilisation de plus de 3 milliards de comprimés par an à partir de 1981, soit 60 % de la consommation mondiale selon l'O.M.S (112). Cette consommation africaine qui s'élevait à 178 tonnes en 1983 (112) avait atteint un pic de 191 tonnes de chloroquine base en 1988 (162).

“D'autres facteurs ont pu également jouer un rôle dans l'extension rapide de la chloroquinorésistance, les mouvements des populations et la dispersion des souches résistantes qu'ils ont entraînée.

3.3. Amodiaquine

A cause des parentés structurale et fonctionnelle entre les amino-4-quinoléines, des relations croisées de sensibilité ou de résistance avaient été constatées entre l'amodiaquine et la chloroquine (WHO, 1984). Mais d'après des résultats obtenus au laboratoire et sur le terrain, la résistance croisée entre ces deux antipaludiques n'est pas de règle (91). L'amodiaquine qui est plus active que la chloroquine a en effet une structure différente de base de Mannich. D'autre part, elle agit principalement par l'intermédiaire de son premier métabolite actif la monodéséthyl amodiaquine.

C'est ainsi qu'une résistance croisée entre l'amodiaquine et la chloroquine avait été observée *in vitro* avec des isollements de *P. falciparum* provenant de singe *Aotus* (135), mais non avec des souches en culture continue (66).

En outre, l'amodiaquine s'était révélée active *in vitro* sur des souches de *P. falciparum* chloroquinorésistant en Thaïlande en 1985 (35) et au Kenya, à Malindi (142,157). Par contre, une souche amodiaquinorésistante avait été isolée dans une zone de chloroquinosensibilité au Togo (73) et, aux Philippines quatre sur cinq souches amodiaquinorésistantes isolées en milieu hospitalier étaient sensibles à la chloroquine (158).

L'efficacité thérapeutique de la dose standard d'amodiaquine (25 mg/kgp/3 j) avait été observée en zone de chloroquinorésistance modérée ou notable. C'était le cas à Madagascar où aucun cas de recrudescence n'avait été enregistré (125) ; il en était de même au Kenya à Malindi où seul un cas de résistance sur 21 tests effectués et deux cas sur 26 tests avaient été enregistrés, respectivement par Spencer et collaborateurs (142) et Watkins et collaborateurs (157).

Cependant, des échecs thérapeutiques avaient été enregistrés avec la dose standard d'amodiaquine en Thaïlande et aux Philippines (158) où six cas de paludisme à *P. falciparum* sur huit hospitalisés étaient amodiaquinorésistants parmi lesquels quatre de niveau RII ou RIII. Il en était de même à Zanzibar (142) et au Cameroun à Edea où 56 % (sur 15 sujets) étaient porteurs de trophozoïtes à J7 (99).

D'autres échecs thérapeutiques signalés étaient plutôt liés à l'utilisation de doses insuffisantes d'amodiaquine : deux sur 22 au Nigéria à Ibadan avec 15 mg/kgp/1j (153) et quatorze sur 24 au Pakistan dans le Punjab en 1984 avec 20 mg/kgp/2 j (80).

D'après Wernsdorfer (162), la résistance à l'amodiaquine suit largement la distribution de la chloroquinorésistance si bien que son utilisation offre seulement un sursis éphémère.

3.4. Quinine

Les premiers cas de résistance de *P. falciparum* à la quinine avaient été observés au début de ce siècle au Brésil (106) et en Bolivie (109) chez des expatriés européens. Des cas de décès avaient même été enregistrés en

Bolivie alors que chez les autochtones les cas de paludisme étaient efficacement traités avec les mêmes doses de quinine d'après Peters (122). Par la suite, des cas sporadiques de quininorésistance, rarement prouvés cependant, avaient été signalés dans divers pays jusqu'à ce que les antipaludiques de synthèse aient supplanté la quinine (161).

Ce n'est qu'au début de 1980, en Thaïlande, que les trois premiers cas autochtones de résistance à la quinine avaient été mis en évidence (37), suite à sa large utilisation dans le traitement des infestations à *P. falciparum* polychimiorésistant. Cette résistance avait été confirmée à la frontière Thaïlando-Cambodgienne avec une prévalence élevée : 1/3 des 59 patients traités à la dose standard de quinine pendant 7 à 10 jours présentaient une résistance de niveau RI ou RII (126). Ce qui avait motivé l'utilisation en 1982 de la combinaison quinine-tétracycline, reconnue efficace sur les souches quininorésistantes par Reacher et collaborateurs (126), pour traiter les infestations à *P. falciparum* quininorésistantes (162). Et, dans les années qui suivirent, la sensibilité de *P. falciparum* à la quinine avait rapidement chuté (162).

En Afrique actuellement, l'efficacité thérapeutique de la quinine semble généralement conservée même en zone de chloroquinorésistance. Aucun cas de recrudescence n'avait été observé au Malawi et en Gambie chez respectivement 25 et 21 sujets traités (167). Un seul cas de paludisme sur 160 étudiés était suspect de quininorésistance au Congo en 1989 (30). Les huit cas de recrudescence enregistrés en 1986 à Kinshasa en milieu hospitalier seraient probablement dus à des doses de quinine insuffisantes (20 mg/kgp pendant 5 jours). Cependant des cas sporadiques de résistance à cet antipaludique, en provenance de plusieurs zones géographiques avaient été signalés.

In vitro, la réponse de *P. falciparum* à la quinine était généralement bonne au Gabon (47), au Nigéria (55, 130) et récemment en Gambie (100). Il en était de même au Nigéria à Zaria où seule une réduction marquée de la sensibilité à la quinine avait été constatée assez récemment (96).

3.5. Méfloquine

Les essais cliniques de la méfloquine effectués dans trois continents chez des centaines de sujets atteints d'accès palustre avaient montré qu'elle était très active sur presque toutes les infections à *P. falciparum* chloroquinorésistantes comme chloroquinosensibles. Ce qui avait été confirmé en 1985-1986 à la frontière Birmano-Thaïlandaise avec 98 % de succès thérapeutique sur 5 192 sujets testés (110) et ultérieurement au Nigéria (140). Les doses curatives de méfloquine avait été également utilisées avec succès chez des voyageurs en provenance d'Afrique de l'Ouest et centrale (33), et lors d'une étude effectuée en 1990 à Dakar (77).

Cependant il avait été fait état de cas sporadiques de paludisme à *P. falciparum* résistant à la méfloquine chez des sujets n'ayant jamais été auparavant exposés au médicament : aux Philippines (139), en Thaïlande (13, 84), en Tanzanie (23) et en Afrique de l'Ouest (59). Et, les souches correspondantes n'avaient répondu *in vitro* qu'à des concentrations de méfloquine supérieures à celles nécessaires antérieurement. Ultérieurement, de nombreux échecs thérapeutiques à cet antipaludique avaient été constatés en Thaïlande (frontières Est et Ouest), suite à son utilisation courante à partir de 1985, dans le traitement du paludisme résistant confirmé parasitologiquement (162). C'était le cas à la frontière Birmano-Thaïlandaise (110).

In vitro l'activité de la méfloquine avait également été démontrée en Asie, en Thaïlande et au Pakistan dans le Punjab (159, 80). La même constatation avait été faite dans certains pays d'Afrique de l'Ouest, au Libéria et au Sénégal à Thiès (12,118), et en Afrique centrale au Cameroun à Limbe, et au Congo (18, 27). Mais des souches de *P. falciparum* naturellement résistantes à la méfloquine avaient été isolées dans divers pays d'Afrique centrale et de l'Ouest de 1985 à 1988, cela indépendamment de la situation de la chloroquinorésistance. Parmi eux on peut citer le Cameroun et la Guinée (47), le Nigéria (131), le Bénin (36, 72) et trois pays sahéliens, le Burkina Faso, le Niger et le Mali (116, 64, 117). Cependant seule une baisse de sensibilité à la méfloquine avait été notée lors d'études effectuées au Nigéria à Zaria (96), et au Sénégal à Dakar (77).

DEUXIEME PARTIE

CADRE BIOGEOGRAPHIQUE

L'étude de la chimiosensibilité de *P. gasiparum* s'est déroulée dans la Région administrative de Dakar, au niveau des départements de Dakar et Pikine. (Fig. I bis)

La Région de Dakar est située à l'extrême Ouest du Sénégal. Elle couvre une superficie de 550 km². Elle comptait 1 488 941 habitants en 1988 d'après le Ministère de l'Economie, des Finances et du Plan (101) (1992). En 1993, sa population était estimée à 1 801 312 habitants avec un accroissement annuel de 3,83 % (102).

Cette région se caractérise par d'importants déplacements temporaires (durée inférieure à 6 mois) et mouvements migratoires (durée supérieure à 6 mois) de populations. Ainsi, en 1988, les immigrants représentaient 32,5 % des résidents. Ces immigrants dont un sur deux a 25 ans ou plus proviennent surtout de Thiès (23,3 %), Saint Louis (17,9 %), Diourbel, Louga et Ziguinchor (12 % chacune)

La Région de Dakar est essentiellement peuplée de Wolof (53,8 %), Poular (18,5 %), Serer (11,6 %), Diola (4,7 %) (101). Toutes les autres ethnies du Sénégal y sont représentées. On distingue également d'autres communautés : Libano-Syriens, Cap-Verdiens, autres africains, européens.

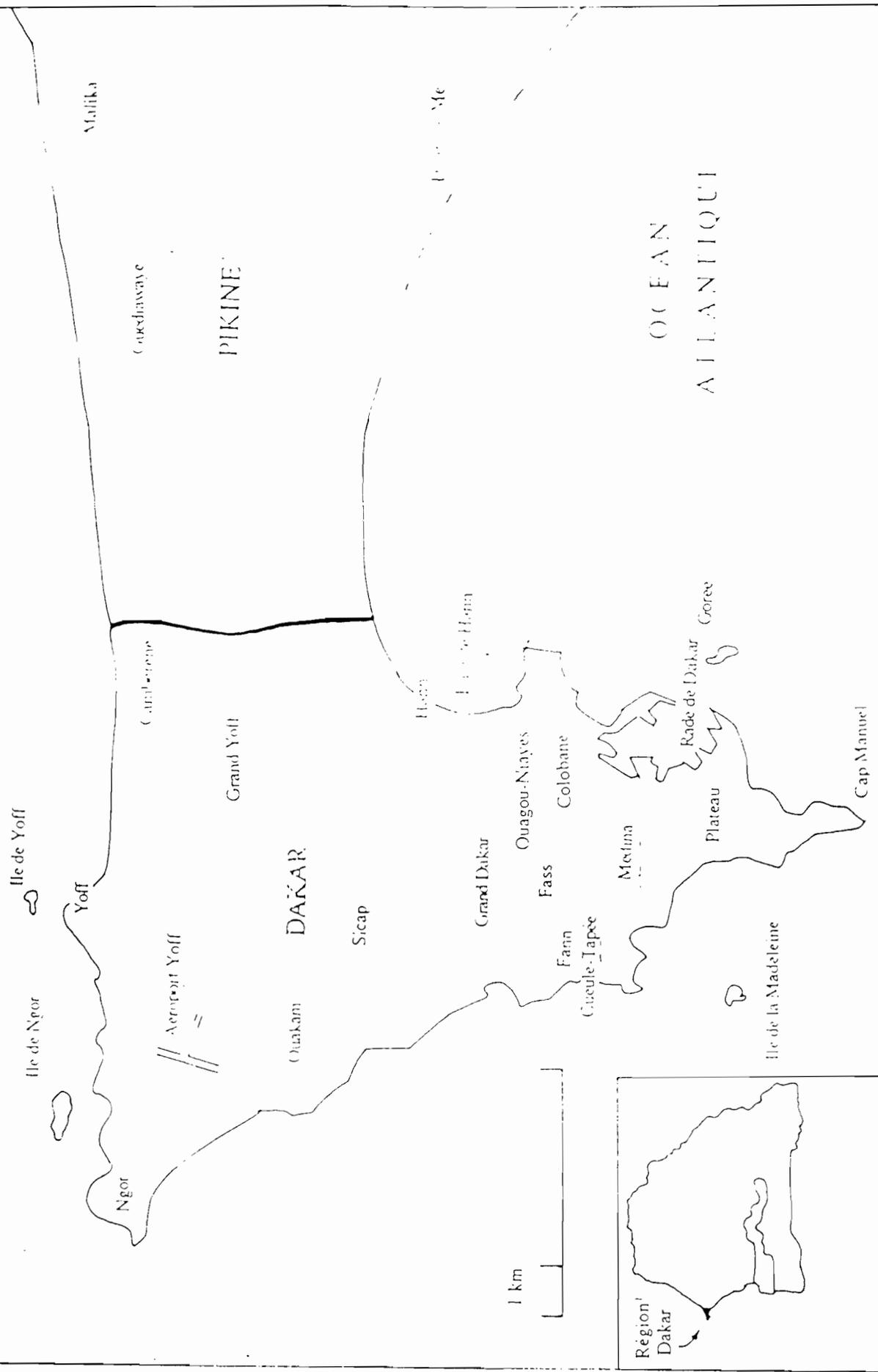
La Région de Dakar comprend trois départements : Rufisque, Pikine et Dakar. Seuls les deux derniers nous ont intéressés.

1. DÉPARTEMENT DE DAKAR

Le Département de Dakar est situé à l'extrême pointe de la Région de Dakar. Il couvre une superficie de 82,5 km². Sa situation exacte est 14° 40' - 14° 45' de latitude Nord et 17° 25' - 17° 33' de longitude Ouest. Il est limité au Nord, à l'Ouest et au Sud par l'océan Atlantique et à l'Est par le Département de Pikine.

DEPARTEMENT DE DAKAR

Fig. 1 (bis)



La pluviométrie annuelle était de 384,5 mm en 1987, de 472,7 mm en 1988, de 269,3 mm en 1990, de 403 mm en 1992, de 440 mm en 1993 et de 241,2 mm en 1994. La température moyenne maximale annuelle est de 28° C et la minimale de 20°4 C. La végétation naturelle a pratiquement disparu sauf dans les Niayes (dépressions interdunaires inondées pendant la saison des pluies, asséchées partiellement ou totalement pendant la saison sèche) où se pratiquent des cultures maraîchères.

Le Département de Dakar comptait en 1988, 680 932 habitants. En 1993 sa population était estimée à 767 194 habitants avec un accroissement annuel de 2,36 %.

En 1988 il y'avait 17 623 résidents absents (2,6 %), 15 407 visiteurs (2,3 %) et 213 040 immigrants (34,1 % de la population résidente) : 14,7 % des immigrants étaient des étrangers.

Les activités industrielles, commerciales et de services dominent largement alors que l'agriculture et la pêche artisanale ne représentent que 34,7 % de la population active.

Dakar est une zone urbaine qui compte 123 quartiers (101). Le taux d'urbanisation global qui se situe autour de 60 % varie selon les quartiers.

Le Département de Dakar compte un système de distribution d'eau potable et un réseau d'égoûts qui ne couvre cependant pas tous les quartiers. Là où il est absent, il est remplacé par des fosses septiques étanches.

Le taux de scolarisation dépasse 90 %.

Sur le plan sanitaire, Dakar est divisé en quatre districts : Centre, Nord-Est, Sud ou Plateau et Ouest. Il comptait en 1992, 32 postes de santé, six centres de santé, six hôpitaux, 239 cabinets et 13 cliniques (102).

Le nombre d'habitants pour un poste de santé varie de 17 429 (District Sud) à 47 453 (District Nord-Est). Le Rayon Moyen d'Action qui renseigne sur l'accessibilité théorique d'un poste de santé est de 1,5 km.

2. DÉPARTEMENT DE PIKINE

Le Département de Pikine est situé à 15 km de Dakar. Il est limité au Nord et au Sud par l'océan Atlantique, à l'Ouest par le Département de Dakar et à l'Est par celui de Rufisque. Sa superficie est de 111 km².

Ce département avait 619 759 habitants en 1988. En 1993, sa population était estimée à 812 344 habitants avec un accroissement annuel de 5,48 % (Ministère de la Santé, 1995).

En 1988, 18 013 habitants (2,9 %) étaient des résidents absents, 13 853 (2,3 %) des visiteurs et 212 637 (35,7 % de la population résidente) des immigrants.

Les professions les plus représentées sont les ouvriers (45 %), les artisans et marchands (19 %) et les fonctionnaires (17 %).

Seuls 38 % des enfants scolarisables vont à l'école.

Sur le plan de l'urbanisation on distingue quatre zones : Pikine ancien où l'habitat est en dur, Guédiawaye où l'urbanisation est sauvage, Pikine irrégulier où les habitats sont désordonnés et spontanés et des villages traditionnels.

Le Département de Pikine compte un système d'approvisionnement en eau potable mais qui est insuffisant. Seuls 26 % des ménages ont de l'eau courante tandis que 60 % sont approvisionnés par des équipements collectifs (bornes fontaines).

Le système d'évacuation (égoût) qui existe pour une partie de Pikine n'est pas fonctionnel.

Le Département de Pikine est une zone urbaine qui compte 97 localités (101).

Sur le plan sanitaire il est subdivisé en deux districts : le District de Pikine et le District de Guédiawaye. Il comptait en 1992, deux centres de santé, 21 postes de santé, 24 cabinets et quatre cliniques.

Le nombre d'habitants pour un poste de santé est de 21 418 dans le District de Pikine ; le Rayon Moyen d'Action est de 1,5 km.

3. QUELQUES ÉLÉMENTS SUR LE PALUDISME DANS LES DÉPARTEMENTS DE DAKAR ET PIKINE

Le paludisme sévit à l'état hypoendémique dans les départements de Dakar et Pikine. Il se caractérise cependant par une recrudescence durant la saison des pluies et au décours de celle-ci. Ainsi, à Pikine, Vercruyse et collaborateurs (151) avaient enregistré un indice plasmodique moyen de 8,8 % pour 296 enfants et Trape et collaborateurs (149) des indices plasmodiques variant de 3,6 % à 7,5 % selon les saisons. A Dakar en 1993, l'indice plasmodique moyen était de 2,6 % sur 1 819 examinés (43).

P. falciparum est le principal agent responsable du paludisme dans ces deux départements. Il est parfois associé à *P. malariae* et *P. ovale*. A Pikine, les taux de prévalence dans la population générale se situaient à 3,85 % (global), à 3,57 % (*P. falciparum*), à 0,24 % (*P. malariae*) et à 0,04 % (*P. ovale*) (94). A Dakar, *P. falciparum* était la seule espèce rencontrée en 1993 (43).

La transmission du paludisme est assurée à Pikine par *Anopheles arabiensis* dont les gîtes larvaires sont constitués par les Niayes et les céanes, puits pérennes peu profonds (150).

La morbidité palustre est importante dans la Région de Dakar. D'après le Ministère de la Santé (102), les accès palustres y représentaient en 1993, 17,59 % des 307 889 cas des 15 premières causes de morbidité. Cette morbidité est importante à Dakar du fait que pratiquement toutes les infestations se traduisent par des cas cliniques, en raison de la rareté des contacts "hommes/parasites" (43).

La stratégie officielle pour le contrôle du paludisme dans les départements de Dakar et Pikine est celle adoptée au niveau national. De 1969 à 1983, ce fut la prophylaxie à la chloroquine à la dose hebdomadaire unique de 10 mg/kgp chez les enfants de 0 à 5 ans et les femmes enceintes, durant la saison pluvieuse et au début de la saison sèche. A partir de 1984, cette prophylaxie a été associée à la chimiothérapie systématique des cas fébriles ou CAF, à la dose unique de chloroquine de 5 mg/kgp ou de 10 mg/kgp. Actuellement, c'est le traitement présomptif à dose correcte qui est préconisé.

La chloroquine est également utilisée dans le traitement curatif du paludisme au niveau des structures sanitaires à la dose totale de 25 mg/kgp. La quinine y est employée sous la forme injectable pour traiter les formes cliniques avec signes de gravité ou en cas de vomissement, avec un relais par la chloroquine. Ces deux antipaludiques sont également disponibles dans les pharmacies où leur vente est libre ; ce qui favorise l'automédication.

D'autres médicaments sont actuellement employés dans le traitement curatif et/ou préventif du paludisme : l'amodiaquine, la pyriméthamine, l'association sulfadoxine-pyriméthamine, et récemment, l'association sulfadoxine-pyriméthamine-méfloquine, l'halofantrine et l'arthémeter. Leur utilisation est cependant limitée du fait de leur délivrance sur ordonnance médicale ou de leur coût élevé (Fansimef® et Halfan®).

MATERIEL ET METHODES

1. CADRE DE L'ÉTUDE

L'étude a eu lieu de 1987 à 1994-1995. Elle s'est déroulée en quatre périodes et a eu pour cadre :

l'hôpital de Fann de Dakar en Novembre-Décembre 1987.

- trois dispensaires de Dakar sis dans les quartiers Rebeuss (St Martin), Médina (St Laurent) et Derklé et le Dispensaire Notre Dame du Cap Vert de Pikine, en Novembre-Décembre 1988 et Janvier 1989

- le même dispensaire de Pikine en Décembre 1990-Janvier 1991.

- le Dispensaire St Laurent en Novembre-Décembre 1994 et Janvier 1995, et sept quartiers de Dakar en Juillet 1994-Janvier 1995 : Colobane, Fann, Fann Résidence, Fass, Gueule Tapée, Médina et Pateau.

Tous les quartiers précédemment indiqués appartiennent au District sanitaire de Dakar-Sud, à l'exception de Derklé, qui occupe le Sud du département.

Ce district a une superficie de 27 km². Sa population était estimée à 174 294 habitants en 1992 (102).

Il compte 5 hôpitaux, 10 postes de santé, 129 cabinets et 6 cliniques.

Le Dispensaire Notre Dame du Cap Vert est l'un des plus importants dispensaires de Pikine. Il se trouve dans le District sanitaire de Pikine qui occupe le sud du département, à l'entrée de la localité.

Le District de Pikine a une superficie de 37 km². Sa population totale était de 257 038 habitants en 1992 (102).

Il dispose de 12 postes de santé, 1 centre de santé, 23 cabinets et 4 cliniques.

Un certain nombre d'éléments justifie le choix de Dakar et Pikine. Il s'agit de deux grandes villes de la Région de Dakar, proches sur le plan démographique et du paludisme qui est du type hypoendémique à transmission discontinue. La pression de chloroquine y est importante, liée à l'existence d'une infrastructure sanitaire développée. Aussi de par leur intense trafic national et international, ces deux villes sont exposées à l'importation de souches de *P. falciparum* chimiorésistantes, à partir des zones où la chimiorésistance de *P. falciparum* existe. Autant de facteurs favorisant l'émergence et l'extention de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine.

D'autre part, les déplacements des personnes entre Dakar et Pikine, distant seulement de 15 km, sont importants et constants. D'où l'impossibilité de savoir avec précision l'endroit (Dakar ou Pikine) où les sujets parasités se sont effectivement contaminés même sur la base de leurs déclarations suite à un interrogatoire.

L'étude en milieu hospitalier et dans les dispensaires est appropriée. En effet en zone d'hypoendémie, le paludisme urbain se caractérise par un faible pourcentage de porteurs asymptomatiques de trophozoïtes, et les structures sanitaires permettent d'obtenir plus facilement le nombre de tests requis. En 1994-1995, l'étude *in vivo* a été menée dans les quartiers, mais dans le cadre d'une enquête paludométrique.

Les structures sanitaires, préalablement indiquées, ont été choisies en raison de leur bonne fréquentation et de leur rayon d'attraction couvrant toute la zone d'étude.

L'étude effectuée généralement de Novembre à Janvier, c'est-à-dire au début de la saison sèche, période où la transmission du paludisme peut être considérée comme nulle, a permis de minimiser les réinfestations des sujets : donc les fausses résistances de niveau RI tardif.

2. PATIENTS

Le recrutement des patients s'est déroulé sur quatre périodes comme précédemment mentionné, en 1987, 1988-1989, 1990-1991 et 1994-1995.

Durant les trois premières périodes les patients ont été sélectionnés parmi des sujets venus en consultation dans des formations sanitaires des localités indiquées. Dans la dernière période, les sujets retenus l'ont été à l'occasion de visites médicales effectuées à domicile pour les tests *in vivo*, et de consultations au dispensaire mentionné pour les tests *in vitro*.

Les patients sélectionnés présentaient tous un paludisme à *P. falciparum* exclusivement avec une parasitémie supérieure ou égale à 1 000 trophozoïtes/mm³ de sang. Leur état général n'était pas altéré et la recherche d'acide 4-quinoléinique dans l'urine était négative. Tous avaient donné leur consentement pour entrer dans l'étude.

Au total 288 patients des deux sexes âgés de 2 à 64 ans ont été ainsi sélectionnés pendant la durée totale de l'étude. Parmi eux 131 ont été soumis aux tests *in vivo* et 225 aux tests *in vitro*.

3. MÉTHODES

3.1. Recrutement des patients

La sélection a consisté à faire un frottis sanguin à tous les patients pour qui le diagnostic du paludisme a été retenu à la consultation. Le frottis est coloré au Giemsa et examiné immédiatement sur 100 champs microscopiques. Les malades hébergeant *P. falciparum* exclusivement avec une parasitémie au moins égale à 1000 globules rouges parasités par des trophozoïtes (GRP) par mm³ de sang sont retenus. Chacun d'entre eux est à nouveau examiné cliniquement avec prise de la température corporelle. Ceux parmi eux présentant un état général non altéré font l'objet d'un prélèvement d'urine pour la recherche d'acide 4-quinoléinique par la méthode de Dill et Glazcko (97). Si cet examen est négatif et qu'ils donnent leur consentement ils sont inclus dans l'étude.

Des renseignements concernant chaque membre de l'échantillon, relatifs à l'identité, à l'adresse et aux résultats des examens cliniques et parasitologiques sont consignés dans une fiche d'observation individuelle. En 1994-1995 des renseignements sur les déplacements effectués en dehors de Dakar ont été pris en compte.

Les patients qui hébergeaient des hématozoaires exclus de l'étude ont reçu un traitement antipaludique approprié à leur état clinique.

3.2. Tests *in vivo*

Les tests *in vivo* ont été réalisés en 1988, 1990-1991 et 1994-1995. Ils ont intéressé la chloroquine qui a été employée par voie orale selon deux schémas thérapeutiques.

Le schéma préconisé par l'O.M.S (165) a été utilisé en 1988 et 1990-1991. Les malades ont été traités à la dose de 10 mg de chloroquine base par kilogramme de poids corporel (kgp) par jour durant deux jours consécutifs et de 5 mg/kgp le jour suivant. Les sujets de plus de 60 kg ont reçu une dose totale de chloroquine base de 1 500 mg.

En 1994-1995, un schéma thérapeutique de 5 jours (68) a été utilisé. Les adultes ont reçu 500 mg de chloroquine base par jour durant 5 jours consécutifs, soit une dose totale de 2 500 mg et les enfants les doses ci-après :

Jusqu'à 1 an : 100 mg les 2 premiers jours (j) puis 50 mg les trois jours suivants :

de 1 à 3 ans : 150 mg x 2 j puis 100 mg x 3 j

de 3 à 6 ans : 200 mg x 2 j puis 150 mg x 3 j

de 6 à 9 ans : 300 mg x 2 j puis 200 mg x 3 j

de 9 à 12 ans : 400 mg x 2 j puis 250 mg x 3 j

plus de 12 ans : dose adulte.

Lors des deux premières périodes d'étude, c'est le test de l'O.M.S de 14 jours (165) qui a été utilisé avec des contrôles parasitologiques réduits à cinq J0 (premier jour avant traitement), J2, J4, J7 et J14. En 1994-1995, c'est le test de l'O.M.S de 29 jours (165) qui a été appliqué.

C'est l'association sulfadoxine-pyriméthamine (Fansidar®) en prise unique *per os* qui a été retenue pour traiter les cas éventuels de paludisme chloroquino-résistant.

C'est le sulfate de chloroquine (Nivaquine®) présenté sous forme de comprimés dosés à 100 mg de chloroquine base, conditionnés en boîtes de 1 000 achetées dans une pharmacie de la place qui a été employé pour le traitement.

En 1988, avant d'entamer la boîte, un contrôle de qualité est effectué sur un échantillon de 50 comprimés. Il a révélé qu'ils avaient une teneur en chloroquine base de 100 à 115 mg (moyenne arithmétique 106.4 mg ; D.S 4,6 mg) déterminée par spectrophotométrie à la longueur d'onde de 342 nm au Laboratoire de Chimie Analytique et Toxicologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie (Dakar). Ils étaient donc conformes.

La première dose a été administrée à J0. En 1988 et 1990-1991, les patients ont été revus à domicile à J1 et J2 pour l'administration des 2^e et 3^e doses et effectuer des examens cliniques et parasitologiques de contrôle. Ceux-ci se sont poursuivis à J4, J7 et J14. Lors de la dernière période, les quatre autres doses ont été administrées de J1 à J4 et les contrôles cliniques et parasitologiques effectués de J1 à J7, à J14, J21 et J28, aux sujets visités.

Les examens parasitologiques ont consisté à faire la numération des parasites et à déterminer la densité parasitaire comme précédemment indiqué dans les méthodes d'étude de la chimiosensibilité *in vivo* (165). Cette numération a été faite, à J7, J14 et J28, par deux personnes différentes. En 1990-1991, la deuxième lecture a été faite au Laboratoire de Paludologie de l'ORSTOM (Sénégal). Et c'est la moyenne arithmétique des deux parasitémiés obtenues qui a été prise en compte.

En 1988, la chloroquinémie a été déterminée à J2. A cet effet, 5 à 10 ml de sang veineux sont prélevés chez chaque sujet, sur tube hépariné sec stérile et conservés à -20° C jusqu'au moment du dosage. Ce dernier a été effectué par la méthode fluorométrique de Fournel (53) aux laboratoires de Chimie Analytique et Toxicologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, et de Chimie de l'ENSUT. La fluorescence de la chloroquine a été mesurée à 405 nm après excitation à 350 nm, en utilisant un fluoromètre digital (Sequoia-Turner Model 112 Digital Filter).

Les résultats des tests *in vivo* ont été interprétés comme précédemment indiqué (165).

Pour chaque période d'étude, les paramètres ci-après ont été déterminés :

- le taux de guérison à chacun des contrôles effectués, c'est-à-dire le nombre et le pourcentage de sujets n hébergeant plus de trophozoïtes de *P. falciparum* parmi les examinés ;
- le taux moyen de réduction de la parasitémie à chaque contrôle par rapport à la parasitémie correspondante à J0, chez les sujets non guéris ;
- le taux de prévalence de souches de *P. falciparum* chloroquinosensibles et chloroquinorésistantes (niveaux de résistance) ;
- les caractéristiques des cas de chloroquine-résistance mis en évidence.

3.3. Tests *in vitro*

La chloroquine, l'amodiaquine, la quinine et la méfloquine ont été évaluées *in vitro* de 1987 à 1994-1995 selon deux microméthodes. Celle préconisée par l'O.M.S (113, 114) à durée d'incubation de 24-26 heures et une autre qui est une modification de la précédente portant principalement sur la durée d'incubation qui passe à 38-41 heures. Dans les deux cas les

concentrations d'antipaludiques à tester ont été préparées extemporanément, et c'est du sang veineux qui a été utilisé.

Les sujets retenus pour les tests *in vitro* (parasitémie de 1 000 à 100 000 trophozoïtes de *P. falciparum/mm³*) ont fait l'objet à J0 avant la prise du médicament d'une prise de sang veineux d'environ 5 ml sur tube hépariné stérile sec.

Les prélèvements de sangs ont été acheminés dans les meilleurs délais au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar. Ils y ont été conservés à +4° C en attendant la réalisation des tests, au plus tard trois jours après la prise de sang.

3.3.1. Matériel et produits

- Sangs parasités prélevés dans les tubes héparinés
- Produits antipaludiques sous forme de sels présentés en poudre :

. "Chloroquine phosphate" (Halewood Chemicals) : poids moléculaire (P.M) 417,89 (P.M base 319,89 ; $\frac{\text{base}}{\text{sel}} = 0,7654$)

. "Amodiaquine hydrochloride" (Pharmachemic) : P.M 392,39 (P.M base 355,86 ; $\frac{\text{base}}{\text{sel}} = 0,9070$)

. "Quinine bihydrochloride" (ACF Chemiefarma) : PM 397,43 (PM base 324,43 ; $\frac{\text{base}}{\text{sel}} = 0,8163$)

. "Méfloquine hydrochloride" (Roche) : PM 361,04 (PM base 324,54 ; $\frac{\text{base}}{\text{sel}} = 0,8990$)

- Milieu de RPMI 1640 préparé à partir de la poudre (Gibco) comme indiqué par le fournisseur, filtrée sur filtres de 0,45 μm , puis tamponné avec 25 mM/l de bicarbonate de sodium et 25 mM/l de HEPES (Acide hydroxy éthyl pipérazine éthane sulfonique) par litre de milieu et conservé à +4° C.

- Ethanol à 70°
- Eau distillée stérile
- Plaques de microtitration de 96 puits à fond plat stériles (Nunc) répartis en 12 rangées verticales de 8 puits chacune
- Filtres de 0,45 micromètres de porosité
- Pipettes stériles de 1 ml et 5 ml (Falcon)
- Micropipettes de 25 μ l, 200 μ l et 1 000 μ l (Eppendorf) et pointes jaunes et bleues adaptées
- Tubes à hémolyse stériles à vis de 5 ml
- Dessiccateurs avec bougie
- Hotte à flux laminaire
- Nécessaire pour la confection et la coloration de gouttes épaisses

3.3.2. Préparation des antipaludiques pour les tests

Quatre milligrammes de chaque sel d'antipaludique (amodiaquine hydrochloride, quinine bihydrochloride, méfloquine hydrochloride) sont pesés et dissous dans 4 ml d'éthanol à 70°. Dans le cas du phosphate de cénloroquine, les 4 mg sont dissous dans 1,2 ml d'eau distillée stérile et le volume est ramené à 4 ml avec 2,8 ml d'éthanol à 70° pour stériliser la solution. Ces solutions à 1 mg/ml sont conservées à -20° C en aliquots de 100 μ l et utilisées dans un délai maximal de trois mois.

Au moment de la réalisation du test, chaque aliquot est dilué au 100^e dans le milieu RPMI tamponné.

A partir de chaque solution à 10 μ g/ml précédemment obtenue, nous avons préparé une solution dont la concentration en antipaludique base est 2 fois plus élevée que la concentration la plus forte testée comme suit :

- Solution à 2 560 picomoles de chloroquine base/ml (894 μ l de RPMI + 106 μ l de la solution à 10 μ g/ml).

- Solution à 1 280 picomoles d'amodiaquine base/ml (950 μ l de RPMI + 50 μ l de la solution à 10 μ g/ml).

Solution à 10 240 picomoles de quinine base/ml (594 μ l de RPMI + 406 μ l de la solution à 10 μ g/ml).

- Solution à 2 560 picomoles de méfloquine base/ml (908 μ l de RPMI + 92 μ l de la solution à 10 μ g/ml).

A partir de chacune de ces solutions, six autres sont préparées, en effectuant des dilutions dans le RPMI selon une progression géométrique de raison 2. Ce sont ces 7 solutions qui seront distribuées dans les puits de la plaque de microtitration.

3.3.3. Méthode de 24-26 heures

Mode opératoire

1. Diluer le sang parasité au cinquième dans le RPMI tamponné. Distribuer la suspension globulaire ainsi obtenue dans huit puits verticaux par produit à tester à raison de 25 μ l par puits.

2. Ajouter dans le premier puits servant de témoin 25 μ l de RPMI tamponné et dans les sept autres 25 μ l des concentrations préparées, en commençant par la plus faible. Ainsi, chaque puits contient 50 μ l de suspension globulaire à environ 5 % hématocrite. Le tableau 1 indique les quantités d'antipaludique- base dans les puits ; celles-ci sont les mêmes que dans les plaques prédosées (114).

3. Agiter la plaque et l'incuber à l'étuve à 37° C dans un dessiccateur avec bougie pendant 24 à 26 heures.

4. Confectionner des gouttes épaisses (8 par lame) à partir des culots globulaires, les sécher à l'étuve à 37° C, les colorer au Giemsa et les examiner au microscope. Sur chaque goutte compter les schizontes ayant trois noyaux ou plus, en regard de 200 parasites asexués (trophozoïtes et schizontes).

Interprétation des résultats (114)

Le test est considéré comme valable pour une souche donnée, si le nombre moyen de schizontes (moyenne arithmétique) obtenu avec les témoins des quatre antipaludiques étudiés est égale ou supérieur à 20 schizontes pour 200 parasites asexués.

Une souche est dite sensible à l'antipaludique si la CMI de cet antipaludique est inférieure ou égale au seuil de résistance. Elle est résistante lorsque la CMI est supérieure au seuil de résistance. Les seuils de résistance définis par l'O.M.S (114) pour les quatre antipaludiques étudiés sont :

- Chloroquine : 8 picomoles/puits soit $1,6 \times 10^{-6}$ mole/litre (l) de sang
- Amodiaquine : 4 picomoles/puits soit $0,8 \times 10^{-6}$ mole/litre de sang
- Quinine : 256 picomoles/puits soit $51,2 \times 10^{-6}$ mole/litre de sang
- Mefloquine : 64 picomoles/puits soit $12,8 \times 10^{-6}$ mole/litre de sang.

Cette méthode a été utilisée pour tester les prélèvements de sang contenant des trophozoïtes âgés (" large ring forms") de *P. falciparum*.

Tableau 1 : Concentrations d'antipaludiques testées vis-à-vis des souches de *P. falciparum* : dans les puits et dans le sang total

		Concentrations de base						
Chloroquine ou Méfloquine	picomoles puits+	1	2	4	8	16	32	64
	10^{-6} mole/l de sang	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4	12,8
Amodiaquine	picomoles puits	0,5	1	2	4	8	16	32
	10^{-6} mole/l de sang	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4
Quinine	picomoles puits	4	8	16	32	64	128	256
	10^{-6} mole/l de sang	0,8	1,6	3,2	6,4	12,8	25,6	51,2

+ de 50 μ l

3.3.4. Méthode de 38-41 heures

Cette méthode a été employée pour tester les prélèvements de sangs contenant de jeunes trophozoïtes "small ring forms" de *P. falciparum*.

Mode opératoire

1. Diluer le sang parasité au dixième dans le RPMI tamponné. Distribuer la suspension globulaire ainsi obtenue dans neuf puits (par produit à tester) de la plaque à raison de 50 μ l par puits.

2. Incuber la plaque comme dans la méthode de 24-26 heures mais pendant 14 à 17 heures. Cette étape a pour but de transformer les jeunes trophozoïtes en trophozoïtes âgés.

3. Sortir la plaque et retirer de chaque puits 25 μ l de surnageant (RPMI). Confectionner une goutte épaisse à partir du culot globulaire du 9^e puits. Ajouter dans les huit autres puits successivement 25 μ l de RPMI tamponné plus 5 % de plasma d'un donneur sain AB (témoin) et 25 μ l de chacune des concentrations préparées dans le même milieu.

4. Agiter la plaque et l'incuber comme précédemment indiqué, pendant 24 heures.

5. Sortir la plaque, confectionner les gouttes épaisses, les colorer et compter les schizontes comme dans la méthode de 24-26 heures.

La goutte épaisse du 9^e puits est colorée au Giemsa et examinée. Les schizontes ayant 2 noyaux ou plus sont recherchés en regard de 500 parasites asexués.

Interprétation des résultats

Les tests effectués avec les souches n'ayant donné aucun schizonte à l'issue de l'incubation de 14 à 17 heures ont été les seuls examinés.

Parmi elles, ont été retenues, les souches dont le nombre moyen de schizontes obtenu avec les témoins à l'issue de l'incubation de 24 heures est supérieur ou égal à 20 schizontes pour 200 parasites asexués (comme dans la méthode de 24-26 heures).

Les seuils de résistance considérés sont ceux de la méthode O.M.S (114).

Cette méthode a permis de compléter la méthode de 24-26 heures, inadaptée pour tester les souches contenant essentiellement de jeunes trophozoïtes (128). Celles-ci étant généralement rencontrées chez les malades très fébriles.

Cependant, elle a l'inconvénient d'être astreignante, de se limiter aux jeunes trophozoïtes et difficile à exécuter sur le terrain car elle ne peut s'adapter aux plaques prédosées en antipaludiques. Certaines méthodes isotopiques de 42 à 48 heures (88, 17) auraient pu être utilisées, mais elles sont onéreuses.

3.3.5. Expression des résultats

Les concentrations testées sont exprimées en 10^{-6} mole d'antipaludique base/litre de sang (Tableau I).

Les paramètres ci-après sont déterminés pour chaque antipaludique et chaque période d'étude :

1) le taux de prévalence de souches de *P. falciparum* sensibles et résistantes

2) le nombre et le pourcentage de souches totalement inhibées à chaque concentration, par rapport au nombre total des souches testées

3) la droite de régression, pourcentage d'inhibition de la maturation des trophozoïtes en schizontes (échelle des probits) en fonction du logarithme de base 10 de la concentration d'antipaludique base dans le sang total (seuil de signification $p = 0,05$). Ne disposant pas d'un logiciel qui calcule les probits, il a été procédé comme suit :

Les pourcentages d'inhibition ont été calculés comme indiqué dans le protocole O.M.S (70, 113).

Puis les *probits* des pourcentages d'inhibition ont été calculés en utilisant la *Table de la Loi Normale Réduite*.

Ensuite, la régression linéaire est effectuée avec le logiciel Statview 512+ sur un ordinateur Mac Intosh. Ce qui a permis d'avoir l'équation de la droite de régression et tous les paramètres correspondants, et de tracer cette droite.

4) les concentrations moyennes d'antipaludique base entraînant une inhibition de la maturation des trophozoïtes en schizontes par rapport au témoin, de 50 % (CI50), de 90 % (CI90), de 99 % (CI99) et de 100 % (CMI).

La CI50, la CI90 et la CI99 moyennés sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression logarithme de base 10 de la concentration en fonction du probit du pourcentage d'inhibition, en tenant compte du fait que le probit de 50 % est 5, le probit de 90 % est 6,28 et le probit de 99 % est 7,33.

Les moyennes des CMI ont été exprimées en moyenne géométrique (borne inférieure et borne supérieure).

5) les caractéristiques des souches chimiorésistantes isolées : CMI, origine et sensibilité aux autres antipaludiques testés.

6) la corrélation entre les CMI des couples d'antipaludiques.

3.4. Méthodes statistiques

3.4.1. Méthodes *in vivo*

C'est le test du Chi^2 qui a été utilisé pour comparer les pourcentages de cas de chloroquinorésistance enregistrés d'une période d'étude à l'autre : la limite de signification étant fixée au seuil de 5 %. Ce qui permet de suivre l'évolution de la chloroquinorésistance.

3.4.2. Méthodes *in vitro*

Les pourcentages de souches résistantes à chacun des antipaludiques étudiés ont été comparés d'une période d'étude à l'autre, à l'aide du test de Chi^2 (limite de signification de 5 %).

Les concentrations moyennes inhibitrices d'antipaludiques, CI50, CI90, CI99 et CMI ont été présentées avec leurs limites de confiance à 95 %. Les CMI moyennes ont été comparées, d'une période d'étude à l'autre, en utilisant le test t bilatéral pour des échantillons indépendants (test de signification).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) obtenues avec chaque couple d'antipaludiques ont été comparées en effectuant une corrélation entre les logarithmes de base 10 des CMI.

C'est le logiciel Statview 512+ qui a été utilisé à cet effet.

RESULTATS ET COMMENTAIRES

TABLEAU 2 : Caractéristiques, selon la période d'étude, des sujets dont les souches de *P. falciparum* ont été testées *in vitro*

	1987	1988-89	1990-91	1994-95	TOTAL
Nombre de sujets	16	41	22	41	120
Enfants (%)	2 (12,5)	23 (56,1)	6 (27,3)	9 (22,0)	40 (33,3)
Adultes (%)	14 (87,5)	18 (43,9)	16 (72,7)	32 (78,0)	80 (66,7)
Age+ moyen	28,2	15,7	23,2	22,5	21,1
Variations	13 - 52	3 - 42	5 - 52	7 - 49	3 - 52
Parasitémie moyenne *	6 136	17 179	10 765	17 831	13 895
Variations	1 000 - 80 000	2 290 - 90 400	1992 - 98 790	1 000 - 100 000	1 000 - 100 000

+ années (moyenne arithmétique)

* parasitémie exprimée en trophozotes/mm³ (moyenne géométrique)

1. TESTS *IN VITRO*

1.1. Echantillon

Sur un total de 225 souches de *P. falciparum*, 120 soit 53,3 % ont été testées avec succès entre 1987 et 1994-1995.

Ces souches provenaient de 120 sujets différents âgés de 3 à 52 ans avec un âge moyen de 21,1 ans, qui avaient une parasitémie de 1 000 à 100 000 trophozoïtes/mm³ de sang (moyenne géométrique 13 895 trophozoïtes/mm³). Les caractéristiques de ces sujets, selon la période d'étude, sont portées sur le tableau 2.

Parmi les 120 souches, 119 ont été testées en présence de chloroquine, 109 d'amodiaquine, 100 de quinine et 110 de méfloquine. Le tableau 3 indique leur répartition selon la période d'étude.

TABLEAU 3 : Nombre de souches de *P. falciparum* testées *in vitro* par antipaludique selon la période d'étude

	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Chloroquine	15	41	22	41	119
Amodiaquine	16	36	21	36	109
Quinine	12	31	20	37	100
Méfloquine	16	36	21	37	110

1.2. Considérations générales

Pour suivre l'évolution de la chimiosensibilité de *P. falciparum*, nous avons retenu pour chaque période d'étude et pour chaque antipaludique les paramètres ci-après :

- la prévalence des souches résistantes
- la CI50 moyenne des souches testées
- la moyenne des CMI des mêmes souches
- la CMI des souches résistantes
- l'origine géographique probable des souches résistantes si possible.

1.3. Chloroquine

1.3.1. Taux de prévalence des souches sensibles et résistantes

1.3.1.1. Taux de prévalence global

Sur 119 souches de *P. falciparum* testées avec la chloroquine, 85 (71,4 %) étaient totalement inhibées à la concentration de $1,6 \times 10^{-6}$ mole/l de sang (Tableau 4), donc sensibles. Les 34 autres (28,6 %) étaient résistantes.

1.3.1.2. Taux de prévalence selon la période d'étude

Comme l'indique le tableau 4, le taux de prévalence de souches chloroquino-résistantes enregistré en 1990-1991, de 72,7 % est nettement plus élevé que ceux obtenus en 1987 et 1988-1989, et encore plus que celui observé en 1994-1995, de 31,7 %.

Si l'accroissement constaté en 1988-1989 par rapport à 1987 n'est pas statistiquement significatif ($p = 0,59$), il n'en est pas de même de celui enregistré en 1990-1991, hautement significatif par rapport au résultat de 1988-1989 ($\text{Chi}^2 = 23,38$; $p = 0,000$). De même la baisse enregistrée en 1994-1995 par rapport au résultat de 1990-1991 est statistiquement significative ($\text{Chi}^2 = 8,12$; $p = 0,004$).

TABEAU 4 : CHLOROQUINE : CMI* des souches de *P. falciparum* et taux de prévalence des souches sensibles et résistantes selon la période d'étude

CMI	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
0,2	5	0	0	3	8
0,4	2	9	1	6	18
0,8	5	18	4	12	39
1,6	2	10	1	7	20
3,2	1	0	2	6	9
6,4	0	1	6	5	12
12,8	–	2	8	2	12
>12,8	–	1	0	0	1
Total souches	15	41	22	41	119
Sensibles* (%)	14 (93,3)	37 (90,2)	6 (27,3)	28 (68,3)	85 (71,4)
Résistantes (%)	1 (6,7)	4 (9,8)	16 (72,7)	13 (31,7)	34 (28,6)

+ Concentration minimale inhibitrice exprimée en 10^{-6} mole de chloroquine base/l de sang

* CMI égale ou inférieure à $1,6 \times 10^{-6}$ mole/l de sang

Il est donc possible de dire que le taux de prévalence des souches de *P. falciparum* chloroquino-résistantes, après avoir marqué une relative stabilité entre 1987 et 1988-1989, s'est accru brutalement en 1990-1991. Cet accroissement est suivi d'une baisse significative en 1994-1995.

1.3.2. CI50 moyenne des souches étudiées

1.3.2.1. CI50 moyenne globale

Pour les 119 souches testées, la CI50 moyenne de chloroquine est de $0,54 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

1.3.2.2. Variations de la CI50 moyenne selon la période d'étude

D'après le tableau 5, la CI50 moyenne de chloroquine la plus forte, $1,66 \times 10^{-6}$ mole/l de sang a été enregistrée en 1990-1991 et la plus faible, $0,16 \times 10^{-6}$ mole/l de sang, en 1987. Celles observées en 1988-1989 et en 1994-1995 étant très proches.

L'augmentation de la CI50 enregistrée entre 1988-1989 et 1990-1991 est significative d'après les paramètres des droites de régression correspondantes (Figure 2, Tableau 6). Il en est de même de la baisse observée entre 1990-1991 et 1994-1995.

Ainsi donc la CI50 moyenne de chloroquine a augmenté d'abord légèrement puis de façon notable entre 1988-1989 et 1990-1991. Elle a ensuite subi une baisse importante en 1994-1995 par rapport à la CI50 moyenne de 1990-1991.

1.3.3. CMI moyenne des souches étudiées

1.3.3.1. CMI moyenne globale

La CMI de chloroquine des 119 souches a varié de 0,2 à plus de $12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang comme l'indique le tableau 4, la CMI moyenne étant de $1,37 \times 10^{-6}$ mole/l de sang (118 souches).

TABEAU 5 : CHLOROQUINE : Variations, selon la période d'étude, des concentrations⁺ moyennes inhibitrices de la maturation en schizontes de *P. falciparum*

Période	CI50	CI90	CI99	CMI*
1987 n = 15	0,16 (0,06 - 0,41)	0,89 (0,34 - 2,30)	3,62 (1,40 - 9,40)	0,61 (0,37 - 1,14)
1988-89 n = 41	0,46 (0,29 - 0,75)	1,73 (1,07 - 2,79)	5,11 (3,16 - 8,24)	0,98 (0,76 - 1,26)
1990-91 n = 22	1,66 (1,22 - 2,28)	6,46 (4,72 - 8,83)	19,63 (14,36 - 26,85)	4,39 (2,61 - 7,36)
1994-95 n = 41	0,47 (0,42 - 0,54)	1,79 (1,57 - 2,05)	5,35 (4,68 - 6,11)	1,35 (0,95 - 1,92)
Total n = 119	0,54 (0,41 - 0,70)	2,25 (1,73 - 2,94)	7,21 (5,52 - 9,42)	1,37 (1,09 - 1,68)

+ Exprimées en 10^{-6} mole de chloroquine base/l de sang (Intervalle de confiance (I.C.) à 95 %)

* Concentration minimale inhibitrice en moyenne géométrique ; n = 40 en 1988-89

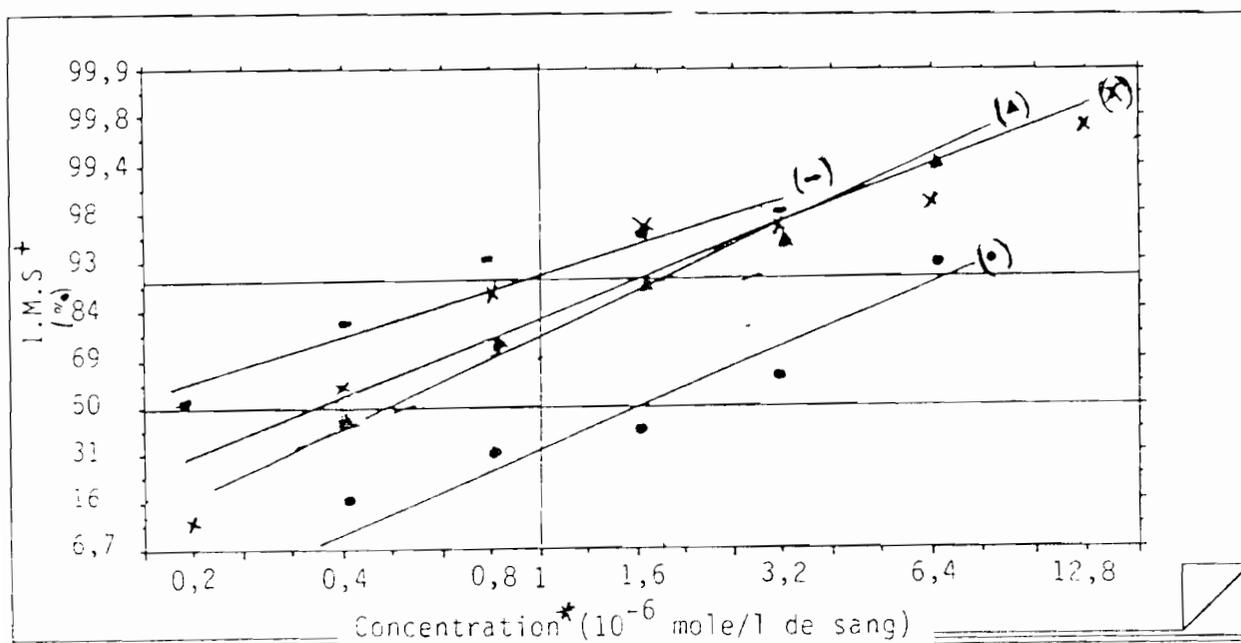


Figure II : Droites de régression de chloroquine selon la période d'étude (données groupées)

+ Pourcentage d'inhibition de la maturation des trophozoites de *P. falciparum*

(échelle des probits)

* de chloroquine base (échelle logarithmique base 10)

(-) 1987 ; (x) 1988-1989 ; (•) 1990-1991 ; (▲) 1994-1995

TABLEAU 6 : CHLOROQUINE : Variations selon la période d'étude, des paramètres+ des droites de régression*

	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Nbre de souches	15	41	22	41	119
R	0,933	0,936	0,957	0,996	0,98
P	0,0207	0,0019	0,0007	0,0001	0,0001
Pente	1,492	1,869	2,079	2,2	1,968
O.O	6,345	5,841	4,522	5,722	5,580
I.C.M. inf.	5,749	5,736	4,318	5,693	5,702
I.C.M. sup.	6,651	6,710	4,948	5,987	6,261

+ R (coefficient de corrélation), P (probabilité), O.O (ordonnée à l'origine), I.C.M (intervalle de confiance de la moyenne (X, Y) à 95 % inférieure et supérieure

* Voir figure II correspondante

1.3.3.2. Variations de la CMI moyenne selon la période d'étude

Le tableau 5 montre que la CMI de chloroquine la plus forte, $4,39 \times 10^{-6}$ mole/l de sang a été enregistrée en 1990-1991 et la plus faible, $0,61 \times 10^{-6}$ mole/l de sang en 1987. Quant à la CMI obtenue en 1994-1995, elle est plus élevée que celle obtenue en 1988-1989.

L'augmentation de la CMI constatée entre 1987 et 1988-1989 n'est pas statistiquement significative ($t = 1,606$ pour 54 ddl, $p = 0,05$), contrairement à celle enregistrée entre 1988-1989 et 1990-1991 ($t = 5,843$ pour 60 ddl, $p = 0,05$). La baisse observée en 1994-1995 par rapport au résultat de 1990-1991 est également statistiquement significative ($t = 2,004$ pour 61 ddl, $p = 0,05$).

Ainsi donc, on peut dire que si elle s'est stabilisée entre 1987 et 1988-1989, la CMI moyenne de chloroquine a accusé une hausse notable en 1990-1991 par rapport à 1988-1989. En revanche, en 1994-1995, il a été observé une diminution importante de la CMI. Ce qui correspond à une baisse puis à une augmentation de la sensibilité des souches de *P. falciparum* à la chloroquine.

1.3.4. Caractéristiques des souches chloroquino-résistantes

1.3.4.1. C M I

D'après le tableau 4, sur 34 souches de *P. falciparum* chloroquino-résistantes isolées, 26 (76,5 %) avaient des CMI de chloroquine de 6,4 à plus de $12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang. Ce qui correspond à une résistance à des concentrations de 3,2 à $12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang soit 2 à 8 fois le seuil de chloroquinorésistance ($1,6 \times 10^{-6}$ mole/l de sang).

Il s'agit là de souches résistantes à des concentrations élevées de chloroquine.

1.3.4.2. Origine des souches chloroquinorésistantes

Parmi les 34 souches chloroquinorésistantes, 6 ont été isolées de sujets ayant déclaré n'avoir pas quitté la Région de Dakar dans les 12 mois qui ont précédé le dépistage.

Dix souches ont été isolées en 1994-1995 de sujets qui ont eu à séjourner en milieu rural dans le mois précédant leur accès palustre. L'un a voyagé en Gambie et les neuf autres à l'intérieur du pays : trois en Casamance, deux à Diourbel, trois à Kaolack et un à Saint-Louis.

Pour les autres souches, il n'a pas été possible de préciser si les sujets porteurs ont voyagé ou non.

1.4. Amodiaquine

1.4.1. Taux de prévalence des souches résistantes et sensibles

1.4.1.1. Taux de prévalence global

Au total 109 souches de *P. falciparum* ont été testées en présence d'amodiaquine. Parmi elles, 101 (92,7 %) dont la maturation en schizontes avait été totalement inhibée à $0,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang, comme l'indique le tableau 7, étaient sensibles. Les 8 autres étaient résistantes soit un taux de prévalence de 7,3 %.

TABLEAU 7 : AMODIAQUINE : CMI⁺ des souches de *P. falciparum* et taux de prévalence des souches sensibles et résistantes selon la période d'étude

CMI	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
0,1	-	2	0	6	8
0,2	5	11	5	13	34
0,4	2	13	7	7	29
0,8	8	7	8	7	30
1,6	0	2	1	2	5
3,2	1	1	0	1	3
6,4	0	0	0	0	0
Total souches	16	36	21	36	109
Sensibles* (%)	15 (93,8)	33 (91,7)	20 (95,2)	33 (91,7)	101 (92,7)
Résistantes (%)	1 (6,2)	3 (8,3)	1 (4,8)	3 (8,3)	8 (7,3)

+ Concentration minimale inhibitrice exprimées en 10^{-6} mole d'amodiaquine base/l de sang

* CMI égale ou inférieure à $0,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang

1.4.1.2. Variations du taux de prévalence selon la période d'étude

D'après le tableau 7, le taux de prévalence des souches amodiaquino-résistantes passe de 6,2 % en 1987 à 8,3 % en 1994-1995, taux le plus élevé enregistré.

Les différences de taux observées d'une période d'étude à l'autre ne sont pas statistiquement significatives ($\text{Chi}^2 = 0,34$; $p = 0,95$).

Ainsi donc, on peut dire qu'il a été enregistré en 1987 un faible taux de prévalence de souches amodiaquinorésistantes, qui est resté quasi-stationnaire jusqu'en 1994-1995.

1.4.2. CI50 moyenne des souches étudiées

1.4.2.1. CI50 moyenne globale

Pour l'ensemble des souches testées, la CI50 moyenne d'amodiaquine est de $0,21 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

1.4.2.2. Variations de la CI50 moyenne selon la période d'étude

Comme le montre le tableau 8, la CI50 moyenne d'amodiaquine la plus élevée $0,28 \times 10^{-6}$ mole/l de sang, a été enregistrée en 1990-1991 et la plus faible $0,18 \times 10^{-6}$ mole/l de sang en 1994-1995.

L'augmentation constatée entre 1987 et 1990-1991 et la baisse entre 1990-1991 et 1994-1995 ne sont pas significatives (figure III ; tableau 9).

L'on peut donc dire que la CI50 moyenne d'amodiaquine n'a pas varié de façon significative jusqu'en 1994-1995. Ce qui est en accord avec une quasi-stabilité de l'activité de l'amodiaquine sur les souches de *P. falciparum* entre 1987 et 1994-1995.

TABLEAU 8 : AMODIAQUINE : Variations, selon la période d'étude, des concentrations⁺ moyennes inhibitrices de la maturation en schizontes de *P. falciparum*

Période	CI50	CI90	CI99	CMI*
1987 n = 10	0,21 (0,14 - 0,31)	0,56 (0,38 - 0,82)	1,22 (0,83 - 1,80)	0,52 (0,34 - 0,77)
1988-89 n = 36	0,20 (0,19 - 0,22)	0,53 (0,49 - 0,57)	1,18 (1,10 - 1,27)	0,39 (0,31 - 0,51)
1990-91 n = 21	0,28 (0,23 - 0,34)	0,54 (0,45 - 0,66)	1,10 (0,86 - 1,28)	0,47 (0,36 - 0,63)
1994-95 n = 36	0,18 (0,16 - 0,20)	0,46 (0,41 - 0,51)	1,01 (0,86 - 1,11)	0,31 (0,22 - 0,42)
Total n = 109	0,21 (0,19 - 0,22)	0,53 (0,49 - 0,57)	1,14 (1,06 - 1,23)	0,40 (0,34 - 0,46)

± Exprimées en 10^{-6} mole d'amodiaquine base/l de sang (Intervalle de confiance (I.C.) à 95 %)

* Concentration minimale inhibitrice, en moyenne géométrique

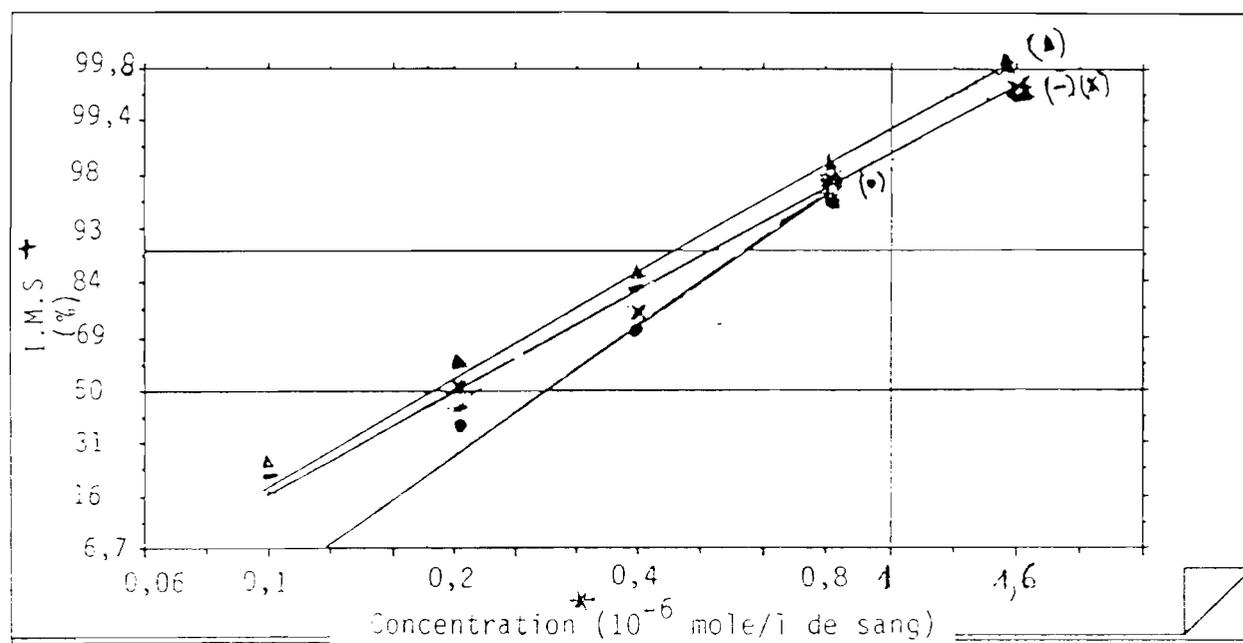


Figure III. Droites de régression d'amodiaquine selon la période d'étude (données groupées)
 + Pourcentage d'inhibition de la maturation des trophozoïtes de *P. falciparum*
 (échelle des probus)
 * d'amodiaquine base (échelle logarithme base 10)

(○) 1987 ; (◻) 1988-1989 ; (●) 1990-1991 ; (▲) 1994-1995

TABLEAU 9 : AMODIAQUINE : Variations selon la période d'étude, des paramètres+ des droites de régression*

	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Nbre de souches	16	36	21	36	109
R	0,986	0,999	0,994	0,997	0,968
P	0,0141	0,0001	0,0062	0,0002	0,0068
Pente	2,973	3,010	3,960	3,103	2,545
O.O	7,043	7,102	7,202	7,331	7,109
I.C.M. inf.	5,791	5,779	4,578	5,899	5,580
I.C.M. sup.	6,824	6,029	5,482	6,293	6,612

+ R (coefficient de corrélation). P (probabilité), O,O (ordonnée à l'origine), I.C.M (intervalle de confiance de la moyenne (X, Y) à 95 % inférieure et supérieure

* Voir figure III correspondante

1.4.3. CMI moyenne des souches étudiées

1.4.3.1. CMI moyenne globale

Les 109 souches de *P. falciparum* testées ont une CMI moyenne d'amodiaquine de $0,40 \times 10^{-6}$ mole/l de sang. Le Tableau 7 indique la variation des CMI de ces souches.

1.4.3.2. Variations de la CMI moyenne selon la période d'étude

D'après le tableau 8, la CMI moyenne d'amodiaquine est de $0,52 \times 10^{-6}$ mole/l de sang en 1987. Elle est plus élevée que les autres CMI notamment celle de 1994-1995 qui est de $0,31 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

La baisse constatée entre 1987 et 1988-1989 n'est pas statistiquement significative ($t = 1,196$ pour 50 ddl ; $p = 0,05$). L'augmentation enregistrée entre 1988-1989 et 1990-1991 ainsi que la baisse entre 1990-1991 et 1994-1995 ne sont pas statistiquement significatives ($t = 0,937$ pour 55 ddl et $t = 1,804$ pour 55 ddl respectivement ; $p = 0,05$)

L'efficacité de l'amodiaquine sur les souches de *P. falciparum* testées en 1987 s'est donc maintenue jusqu'en 1994-1995.

1.4.4. Caractéristiques des souches amodiaquinorésistantes

D'après le tableau 7, parmi les huit souches amodiaquinorésistantes isolées entre 1987 et 1994-1995, cinq ont une CMI de $1,6 \times 10^{-6}$ mole/l de sang. Cette CMI étant proche du seuil de résistance ($0,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang), ces souches sont faiblement résistantes à l'amodiaquine.

Les trois autres souches ont une CMI de $3,2 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

Aucune augmentation de la CMI d'amodiaquine des souches résistantes n'a été enregistrée entre 1987 et 1994-1995.

Parmi les huit souches amodiaquinorésistantes, trois ont été isolées en 1994-1995 de sujets qui ont déclaré n'avoir pas quitté la Région de Dakar.

Pour les cinq autres souches, l'éventualité de voyage des sujets n'a pas pu être explorée.

1.5. Quinine

1.5.1. Taux de prévalence des souches sensibles et résistantes

Comme l'indique le tableau 10, à la concentration de $51,2 \times 10^{-6}$ mole/l de sang (seuil de quininorésistance), les 100 souches de *P. falciparum* évaluées en présence de quinine avaient leur maturation en schizontes totalement inhibée. Elles sont donc toutes sensibles à la quinine soit 100 %.

Leurs CMI figurent sur le tableau 10.

TABLEAU 10 : QUININE : CMI⁺ des souches de *P. falciparum* et taux de prévalence des souches sensibles et résistantes selon la période d'étude

CMI	1987	1988-1989	1990-1993	1994-1995	TOTAL
0,8	0	0	0	0	0
1,6	0	0	0	1	1
3,2	1	0	0	5	6
6,4	2	10	0	15	27
12,8	7	17	10	11	45
25,6	2	2	10	5	19
51,2	—	2	0	0	2
Total souches	12	31	20	37	100
Sensibles* (%)	12 (100)	31 (100)	20 (100)	37 (100)	100 (100)
Résistantes (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

+ Concentration minimale inhibitrice exprimée en 10^{-6} mole de quinine base/l de sang

* CMI égale ou supérieure à $51,2 \times 10^{-6}$ mole/l de sang

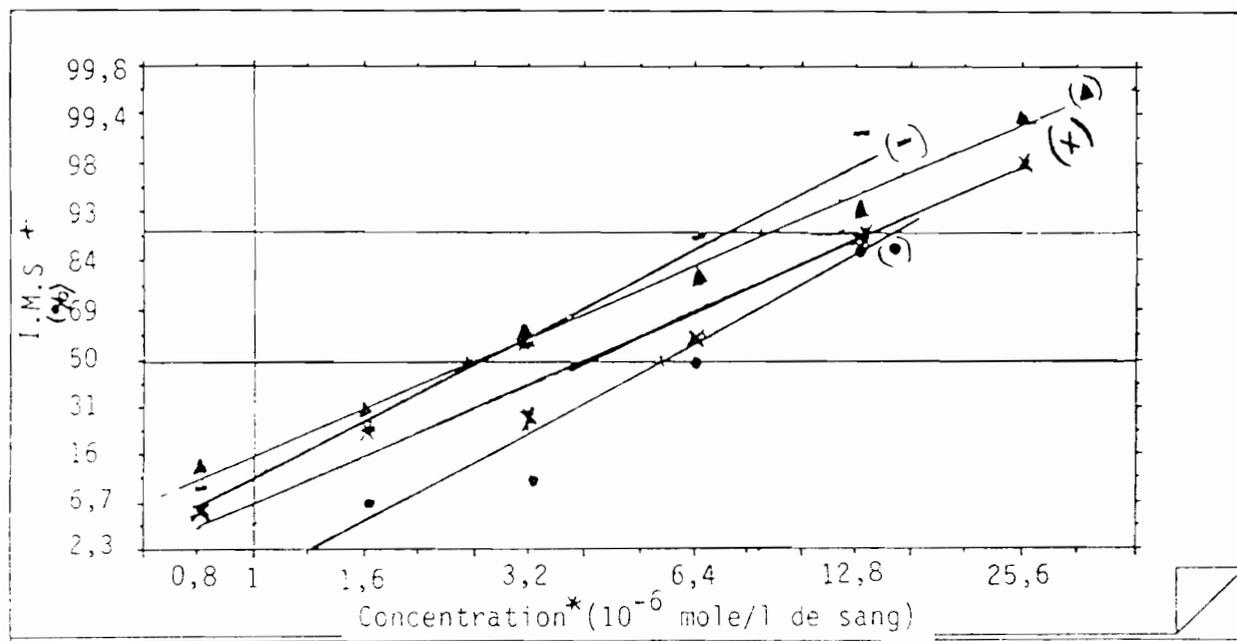


Figure IV : Droites de régression de quinine selon la période d'étude (données groupées)

+ Pourcentage d'inhibition de la maturation des trophozoites de *P. falciparum*
(échelle des probits)

* de quinine base (échelle logarithme base 10)

(-) 1987 ; (x) 1988-1989 ; (●) 1990-1991 ; (▲) 1994-1995

1.5.2. CI50 moyenne des souches testées

1.5.2.1. CI50 moyenne globale

Pour les 100 souches de *P. falciparum* testées, la CI50 moyenne de quinine est de $3,05 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

1.5.2.2. CI50 moyenne selon la période d'étude

D'après le tableau 11, la CI50 moyenne de quinine la plus élevée, $5,43 \times 10^{-6}$ mole/l de sang a été enregistrée en 1990-1991 et la plus faible, $2,53 \times 10^{-6}$ mole/l de sang en 1987. Cette dernière est très proche de la CI50 moyenne obtenue en 1994-1995.

L'augmentation constatée entre 1987 et 1990-1991, de même que la baisse entre 1990-1991 et 1994-1995 sont significatives (Figure 4 ; Tableau 12). Ce qui signifie que l'activité de la quinine vis-à-vis des souches de *P. falciparum* a subi une baisse significative en 1990-1991 puis une hausse significative en 1994-1995 qui l'a ramenée à l'activité enregistrée en 1987.

TABLEAU 11 : QUININE : Variations, selon la période d'étude, des concentrations⁺ moyennes inhibitrices de la maturation en schizontes de *P. falciparum*

Période	CI50	CI90	CI99	CMI*
1987 n = 12	2,53 (2,22 - 2,88)	6,59 (5,78 - 7,52)	14,45 (12,68 - 16,48)	11,4 (7,89 - 16,5)
1988-89 n = 31	4,15 (3,32 - 5,19)	13,15 (10,52 - 16,44)	33,81 (27,04 - 42,27)	11,7 (9,53 - 14,36)
1990-91 n = 20	5,43 (4,49 - 6,58)	15,07 (12,45 - 18,24)	34,75 (28,77 - 42,07)	18,1 (15,31 - 21,38)
1994-95 n = 37	2,56 (2,27 - 2,90)	8,40 (7,41 - 9,51)	22,18 (19,59 - 25,12)	8,3 (6,64 - 10,45)
Total n = 100	3,05 (2,63 - 3,53)	8,81 (7,60 - 10,21)	21,04 (18,16 - 24,38)	11,22 (9,89 - 12,74)

+ Exprimées en 10^{-6} mole de quinine base/l de sang (Intervalle de confiance (I.C.) à 95 %)

* Concentration minimale inhibitrice en moyenne géométrique

TABLEAU 12 : QUININE : Variations selon la période d'étude, des paramètres+ des droites de régression*

	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Nbre de souches	12	31	20	37	100
R	0,995	0,984	0,992	0,997	0,992
P	0,0004	0,0004	0,0009	0,0004	0,0001
Pente	3,046	2,478	2,840	2,475	2,729
O.O	3,773	3,470	2,895	3,990	3,679
I.C.M. inf.	5,078	4,779	4,046	5,097	5,217
I.C.M. sup.	5,546	5,511	4,614	5,383	5,720

+ R (coefficient de corrélation), P (probabilité), O.O (ordonnée à l'origine), I.C.M (intervalle de confiance de la moyenne (X, Y) à 95 % inférieure et supérieure

* Voir figure IV correspondante

1.5.3. CMI moyenne des souches étudiées

1.5.3.1. CMI moyenne globale

La CMI moyenne de quinine des 100 souches de *P. falciparum* testées est de $11,22 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

1.5.3.2. Variations de la CMI moyenne selon la période d'étude

Comme l'indique le tableau 11, c'est en 1990-1991 que la CMI moyenne de quinine la plus forte a été enregistrée ($18,1 \times 10^{-6}$ mole/l de sang) et la plus faible, $8,3 \times 10^{-6}$ mole/l de sang en 1994-1995.

L'augmentation observée entre 1987 et 1988-1989 n'est pas statistiquement significative ($t = 0,478$ pour 39 ddl ; $p = 0,05$). En revanche l'accroissement enregistré entre 1988-1989 et 1990-1991 est statistiquement significatif ($t = 4,746$ pour 47 ddl, $p < 0,001$). Il en est de même de la baisse constatée en 1994-1995 par rapport au résultat de 1990-1991 ($t = 4,692$ pour 55 ddl , $p < 0,001$).

Il est ainsi possible de dire que la CMI moyenne de quinine après une légère stabilité entre 1987 et 1988-1989 a accusé une hausse significative en 1990-1991. Elle a ensuite subi une diminution en 1994-1995 pour se situer à une valeur proche de celle enregistrée en 1988-1989.

1.6. Méfloquine

1.6.1. Taux de prévalence des souches sensibles et résistantes

Les 110 souches de *P. falciparum* testées en présence de méfloquine s'étaient révélées sensibles (100 %) puisque, comme l'indique le tableau 13, à la concentration de $12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang (seuil de méfloquinorésistance), leur maturation en schizontes était totalement inhibée.

Les CMI de ces souches figurent sur le tableau 13.

TABLEAU 13 : MEFLOQUINE : CMI⁺ des souches de *P. falciparum* et taux de prévalence des souches sensibles et résistantes selon la période d'étude

CMI	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
0,2	0	1	0	3	4
0,4	0	0	5	3	8
0,8	2	4	6	3	15
1,6	1	14	6	3	24
3,2	7	7	2	16	32
6,4	6	9	2	8	25
12,8	—	1	0	1	2
Total souches	16	36	21	37	110
Sensibles* (%)	16 (100)	36 (100)	21 (100)	37 (100)	110 (100)
Résistantes (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

+ Concentration minimale inhibitrice exprimée en 10^{-6} mole de méfloquine base/l de sang

* CMI égale ou inférieure à $12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang

1.6.2. CI50 moyenne des souches étudiées

1.6.2.1. CI50 moyenne globale

La CI50 moyenne de méfloquine est de $0,75 \times 10^{-6}$ mole/l de sang pour l'ensemble des souches étudiées.

TABEAU 14 : MÉFLOQUINE : Variations, selon la période d'étude, des concentrations⁺ moyennes inhibitrices de la maturation en schizontes de *P. falciparum*

Période	CI50	CI90	CI99	CMI*
1987 n = 16	0,98 (0,63 - 1,50)	3,67 (2,38 - 5,66)	10,91 (7,08 - 16,83)	3,34 (2,30 - 4,83)
1988-89 n = 36	1,09 (0,77 - 1,56)	3,70 (2,60 - 5,26)	10,02 (7,05 - 14,26)	2,40 (1,80 - 3,20)
1990-91 n = 21	0,47 (0,34 - 0,64)	2,02 (1,48 - 2,75)	6,67 (4,90 - 9,08)	1,15 (0,78 - 1,71)
1994-95 n = 37	0,65 (0,43 - 0,99)	1,97 (1,29 - 3,00)	4,89 (3,21 - 7,45)	2,20 (1,51 - 3,16)
Total n = 110	0,75 (0,52 - 1,10)	2,55 (1,75 - 3,72)	6,90 (4,73 - 10,07)	2,13 (1,77 - 2,56)

+ Exprimées en 10^{-6} mole de méfloquine base/l de sang (Intervalle de confiance (I.C.) à 95 %)

* Concentration minimale inhibitrice en moyenne géométrique

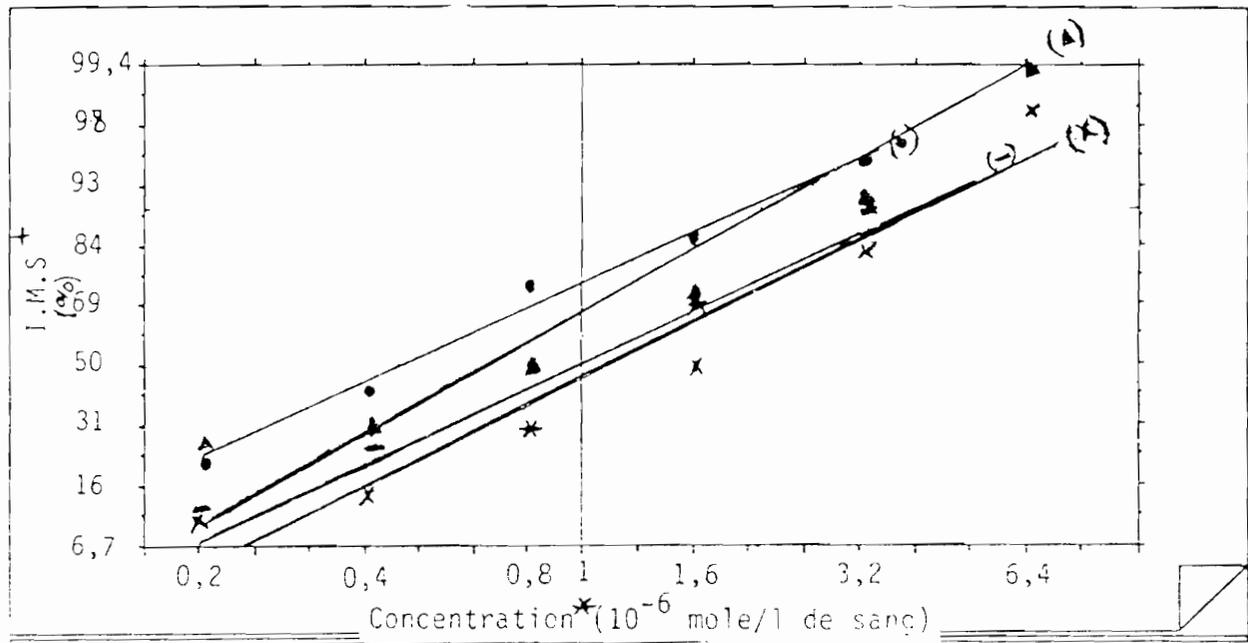


Figure V : Droites de régression de méfloquine selon la période d'étude (données groupées)
 + Pourcentage d'inhibition de la maturation des trophozoïtes de *P. falciparum*
 (échelle des probits)
 ^ de méfloquine base (échelle logarithme base 10)
 (-) 1987 ; (x) 1988-1989 ; (e) 1990-1991 ; (^) 1994-1995

1.6.2.2. Variations de la CI50 moyenne selon la période d'étude

La CI50 moyenne de méfloquine est de $1,09 \times 10^{-6}$ mole/l de sang en 1988-1989 (tableau 14). Elle est proche de la CI50 enregistrée en 1987 tandis qu'elle est plus élevée que celles de 0,47 et $0,65 \times 10^{-6}$ mole/l de sang obtenues respectivement en 1990-1991 et 1994-1995.

Les CI50 enregistrées en 1987 et 1988-1989 ainsi que celles obtenues en 1990-1991 et 1994-1995 sont comparables. Par contre la CI50 obtenue en 1990-1991 est significativement plus faible que celle en 1988-1989 (Figure 5 Tableau 15).

TABLEAU 15 : MEFLOQUINE : Variations selon la période d'étude, des paramètres+ des droites de régression*

	1987	1988-1989	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Nbre de souches	16	36	21	37	110
R	0,975	0,966	0,989	0,945	0,961
P	0,0046	0,0017	0,0013	0,0004	0,0022
Pente	2,113	2,262	1,977	2,366	2,235
O.O	5,009	4,917	5,660	5,515	5,305
I.C.M. inf.	4,431	4,608	5,240	5,055	4,966
I.C.M. sup.	5,177	5,469	5,696	6,229	5,884

+ R (coefficient de corrélation), P (probabilité), 0,0 (ordonnée à l'origine),
I.C.M (intervalle de confiance de la moyenne (X, Y) à 95 % inférieure et supérieure)

* Voir figure V correspondante

Une quasi-stabilité de la CI50 moyenne de méfloquine a été donc constatée sauf entre 1988-1989 et 1990-1991 où une baisse significative de celle-ci a été enregistrée.

1.6.3. CMI moyenne des souches étudiées

1.6.3.1. CMI moyenne globale

Pour l'ensemble des souches de *P. falciparum* testées la CMI moyenne de méfloquine était de $2,13 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

1.6.3.2. Variations de la CMI moyenne selon la période d'étude

D'après le tableau 14, la CMI moyenne de méfloquine la plus faible a été enregistrée en 1990-1991 ($1,15 \times 10^{-6}$ mole/l de sang) et la plus forte en 1987 ($3,34 \times 10^{-6}$ mole/l de sang).

La baisse observée entre 1987 et 1988-1989 n'était pas significative ($t = 1,68$ pour 49 ddl, $p = 0,05$). En revanche celle enregistrée entre 1988-1989 et 1990-1991 est significative ($t = 2,85$ pour 54 ddl, $p < 0,001$). Il en est de même de l'accroissement constaté en 1994-1995 par rapport au résultat de 1990-1991 ($t = 2,7$ pour 56 ddl, $p < 0,001$).

Ce qui permet de dire que la CMI moyenne de méfloquine après avoir marqué une relative stabilité a subi une baisse significative entre 1988-1989 et 1990-1991. Elle a ensuite accusé une hausse significative.

La méfloquine a donc pratiquement gardé la même activité sur les souches de *P. falciparum* sauf en 1990-1991 où elle s'est révélée significativement plus active.

1.7. Corrélation entre les logarithmes des CMI des couples d'antipaludiques

Au total, 98 souches de *P. falciparum* ont été testées à la fois avec la quinine et la chloroquine. Une corrélation assez élevée et significative a été enregistrée entre les logarithmes des CMI de ces deux antipaludiques ($R = 0,466$; $p = 0,0001$).

Aux CMI de chloroquine les plus fortes correspondent donc les CMI de quinine les plus fortes ; d'autre part, aux CMI de chloroquine les plus faibles correspondent les CMI de quinine les plus faibles.

Aucune corrélation n'a été observée entre les logarithmes des CMI des autres couples d'antipaludiques :

- Amodiaquine et chloroquine : (108 souches ; $R = 0,302$; $p = 0,0015$)
- Méfloquine et chloroquine : (108 souches ; $R = -0,225$; $p = 0,019$)
- Amodiaquine et quinine : (98 souches ; $R = 0,399$; $p = 0,0001$)
- Méfloquine et quinine : (100 souches ; $R = 0,302$; $p = 0,0022$)
- Méfloquine et amodiaquine : (106 souches ; $R = 0,308$; $p = 0,013$).

1.8. Sensibilité aux autres antipaludiques des souches de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine ou à l'amodiaquine

Parmi les 34 souches de *P. falciparum* chloroquinorésistantes isolées entre 1987 et 1994-1995, 30 ont été testées avec la quinine et 33 à la méfloquine. Toutes se sont révélées sensibles.

Pour l'amodiaquine, des 31 souches chloroquinorésistantes testées, 29 souches étaient sensibles (93,5 %) ; 2 souches étaient donc résistantes à la fois à la chloroquine et à l'amodiaquine, soit 6,5 %.

Sur les 8 souches amodiaquinorésistantes isolées entre 1987 et 1994-1995, 7 ont été évaluées avec la chloroquine, la quinine et la méfloquine. Elles étaient toutes sensibles à la quinine et à la méfloquine. En revanche parmi elles 2 s'étaient avérées chloroquinorésistantes.

Ainsi, sur 38 souches de *P. falciparum* résistantes aux amino-4-quinoléines, 31 étaient résistantes à la chloroquine seule (81,6 %), 5 à l'amodiaquine seule (13,2 %), 2 à la chloroquine et à l'amodiaquine (5,2 %) et aucune à la quinine et à la méfloquine.

2. TESTS *IN VIVO*

2.1. Caractéristiques des effectifs examinés

Comme l'indique le tableau 16, sur les 131 patients ayant subi le test, 97 ont été correctement suivis soit 74 %. Parmi eux, 25 ont été traités en 1988, 35 en 1990-1991 et 37 en 1994-1995.

Ces patients étaient âgés de 3 à 64 ans avec une majorité d'adultes (60 %) et un âge moyen de 20,4 ans.

Leur parasitémie était comprise entre 1 000 et 139 613 trophozoïtes de *P. falciparum* /mm³ (moyenne géométrique 12 317 trophozoïtes/mm³).

Durant les trois périodes d'études considérées, les âges moyens des patients étaient comparables (tableau 16). S'agissant des parasitémies moyennes, celle de 1990-1991 était nettement plus élevée que pour les deux autres périodes.

Chez tous les sujets traités, le test de Dill et Glazcko, négatif à J0 était positif à J2.

La chloroquinémie qui a pu être évaluée en 1988 chez 17 sujets, était comprise entre 1 295 et 2 689 µg de chloroquine base/l de sang, la moyenne se situant à 1 909,3 µg/l de sang soit $5,97 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

TABLEAU 16 : Caractéristiques, selon la période d'étude, des sujets soumis aux tests de sensibilité *in vivo* de *P. falciparum* à la chloroquine

	1988	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Nbre de sujets	25	35	37	97
Enfants (%)	9 (34,4)	12 (33,3)	19 (51,4)	40 (41,2)
Adultes (%)	16 (65,6)	23 (66,7)	18 (48,6)	57 (58,8)
Age+ moyen	20,4	22,7	20,4	20,4
Extrêmes	3 - 64	5 - 60	3 - 55	3 - 64
Parasitémie moy.	10 148	17 790	9 124	12 317
Extrêmes	1 000 - 69 000	1 702 - 139 613	1 070 - 74 487	1 000 - 139 613

+ Années (moyenne arithmétique)

* Parasitémie exprimée en trophozoïtes/mm³ de sang (moyenne géométrique)

2.2. Taux de prévalence de la chloroquinorésistance

2.2.1. Taux de prévalence global (tableau 17)

Sur les 97 sujets concernés, 29 chez qui l'examen des gouttes épaisses de contrôle a révélé la présence de trophozoïtes de *P. falciparum* à J7 ou au delà (J14, J21 ou J28), hébergeaient donc à J0 des souches chloroquinorésistantes *in vivo*. Ce qui correspond à un taux de prévalence de la chloroquinorésistance de 29,9%.

Chez les 68 autres sujets (70,1%) les gouttes épaisses étaient négatives à J7 et au delà; la réponse à la chloroquine était donc sensible.

TABLEAU 17 : Taux de prévalence, selon la période d'étude, des souches de *P. falciparum* sensibles et résistantes *in vivo* à la chloroquine

	1988	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Tests effectués	25	35	37	97
Sensibles (%)	23 (92,0)	17 (48,6)	28 (75,7)	68 (70,1)
Résistantes (%)	2 (8,0)	18 (51,4)	9 (24,3)	29 (29,9)

2.2.2. Taux de prévalence de la chloroquinorésistance selon la période d'étude

Le tableau 18 montre que le taux de prévalence le plus faible (8 %) a été enregistré en 1988 et le plus élevé (51,4 %) en 1990-1991. En 1994-1995, un taux de 24,3 % a été obtenu.

L'augmentation du taux de prévalence constatée en 1990-1991 par rapport au résultat de 1988 est statistiquement significative ($\text{Chi}^2 = 10,5$; $p = 0,001$). Il en est de même de la baisse observée en 1994-1995 par rapport au résultat de 1990-1991 ($\text{Chi}^2 = 5,58$; $p = 0,018$).

Ainsi donc, après s'être accru entre 1988 et 1990-1991, le taux de prévalence de chloroquinorésistance a subi une baisse significative entre 1990-1991 et 1994-1995.

2.3. Taux de prévalence des niveaux de chloroquinorésistance

2.3.1. Taux de prévalence global

D'après le tableau 18, les 29 cas de chloroquinorésistance enregistrés durant la période d'étude se répartissent comme suit :

13 de niveau RI tardif (13,4 %)

2 de niveau RI précoce (2,1%)

14 de niveau RII (14,4 %)

2.3.2. Taux de prévalence des niveaux de chloroquinorésistance selon la période d'étude

En 1988, les taux de prévalence de chloroquinorésistance de niveau RI tardif et de niveau RII étaient respectivement de 4,0 % (tableau 18).

D'après le même tableau 18, les taux enregistrés en 1990-1991 étaient de 20,0 % (niveau RI tardif) ; 5,7 % (niveau RI précoce) et 25,7 % (niveau RII).

En 1994-1995, 13,5 % de chloroquinorésistance étaient de niveau RI tardif et 10,8 % de niveau RII.

Ainsi, le niveau RII était présent dès 1988 ; et son taux le plus élevé a été obtenu en 1990-1991. Aucune augmentation du niveau de chloroquinorésistance n'a été constatée entre 1988 et 1994-1995.

TABLEAU 18 : Taux de prévalence, selon la période d'étude, des niveaux de chloroquino-résistance de *P. falciparum in vivo*

	1988	1990-1991	1994-1995	TOTAL
Tests effectués	25	35	37	97
RI tardif (%)	1 (4,0)	7 (20,0)	5* (13,5)	13 (13,4)
RI précoce (%)	0 (0,0)	2 (5,7)	0 (0,0)	2 (2,1)
RII (%)	1 (4,0)	9 (25,7)	4 (10,8)	14 (14,4)
Total R (%)	2 (8,0)	18 (51,4)	9 (24,3)	29 (29,9)

* dont 3 résistants à J28

2.4. Caractéristiques des cas de chloroquinorésistance (Tableau 19)

Sur les 29 cas de chloroquinorésistance *in vivo* mis en évidence entre 1988 et 1994-1995, 16 ont été observés chez des enfants (55,2 %) et 13 chez des adultes (44,8 %).

TABLEAU 19 : Caractéristiques des cas de chloroquino-résistance *in vivo*

	1988	1990-1991	1994-1995	TOTAL	
				Nbre	%
Enfants	1	10	5	16	55,2
Adultes	1	8	4	13	44,8
Pyrétiques*	2	7	6	15	51,7
Apyrétiques	0	11	3	14	48,3
Total	2	18	9	29	100,0

*Température égale ou supérieure à 38° C

Dans 14 cas (48,3 %), les sujets étaient apyrétiques après traitement. Les parasitémies enregistrées à J7 ou au delà étaient faibles, variant de 6 trophozoïtes/mm³ à 1 021 trophozoïtes/mm³, sauf dans un cas où elle était relativement élevée (4 332 trophozoïtes/mm³). Ces sujets n'ont pas fait l'objet de traitement antipaludique. Parmi eux, cependant, 3 sujets positifs à J7, n'hébergeaient plus de trophozoïtes de *P. falciparum* aux contrôles effectués ultérieurement.

Il s'agit de deux cas RII de 1994-1995 qui étaient négatifs, l'un à J14 et l'autre à J14 et J28, et d'un cas RI précoce de 1990-1991.

Par contre dans les 15 autres cas (51,7 %), 9 de niveau RII et 6 de niveau RI tardif, les sujets présentaient une hyperthermie. Leur parasitémie était relativement élevée, variant de 1 600 à 40 477 trophozoïtes/mm³, sauf dans deux cas où le nombre de parasites hébergés était faible, 51 et 540 trophozoïtes/mm³.

Tous ces cas fébriles ont été efficacement traités avec la sulfadoxine-pyriméthamine (11 cas), la quinine relayée par l'amodiaquine (3 cas en 1994-1995) et l'Halfan® (le cas RI tardif de 1988).

Les cas de niveau RII fébriles correspondaient à une résistance parasitologique et clinique à la chloroquine. Celle-ci a concerné aussi bien des enfants que des adultes, et a été enregistrée lors des trois périodes d'étude.

"Origine" des cas de chloroquinorésistance

Parmi les 29 cas de chloroquinorésistance *in vivo* enregistrés entre 1988 et 1994-1995, 3 étaient observés chez des sujets ayant déclaré, lors du dépistage, n'avoir pas quitté la Région de Dakar.

7 cas ont été observés chez des sujets qui ont affirmé s'être absents dans la semaine ou le mois qui ont précédé leur inclusion dans l'étude pour les tests (Tableau 20). Tous les sujets concernés avaient voyagé à l'intérieur du pays : 4 en Casamance et 3 dans la Région de Kaolack.

TABLEAU 20 : Réponse *in vivo* de *P. falciparum* à la chloroquine en 1994-1995, selon la notion de voyage ou non des sujets

	Total	Notion de voyage		Sans notion de voyage	
		Nbre	%	Nbre	%
Sensibles*	28	19	67,9	9	32,1
Résistantes*	9	7	77,8	2	22,2
Total	37	26	70,3	11	29,7

* avec s ou sans s

Pour tous les autres cas, les déclarations des sujets concernés n'ont pas été suffisamment crédibles pour retenir ou non un voyage.

Ainsi, il est donc possible de dire que pour la majorité des cas de chloroquinorésistance enregistrés en 1994-1995 à Dakar, les souches pourraient être introduites de l'intérieur du pays. Des souches de *P. falciparum* autochtones et importées co-existeraient ainsi dans la zone d'étude en 1994-1995.

3. COMPARAISON DES RÉSULTATS DES TESTS COUPLES *in vivo* et *in vitro* à LA CHLOROQUINE

Au total 28 souches de *P. falciparum* ont été testées avec la chloroquine à la fois *in vivo* et *in vitro* parmi lesquelles 10 en 1988-1989 et 18 en 1990-1991 ; 21 souches ont été testées avec la méthode de 24 - 26 heures et 7 avec la méthode de 38 - 41 heures.

3.1. Taux de prévalence de chloroquinorésistance

Le tableau 21 montre que sur 28 souches testées, 15 soit 53,6 % se sont révélées chloroquinorésistantes *in vitro*, et 11 (39,3 %) *in vivo*.

TABLEAU 21 : Taux de prévalence (nombre et pourcentage) des souches de *P. falciparum* chloroquinosensibles et chloroquinorésistantes obtenus avec les tests couples *in vivo* et *in vitro* avec la chloroquine

	Testées Nombre	Sensibles		Résistantes	
		Nbre	%	Nbre	%
<i>in vivo</i>	28	17	60,7	11	39,3
<i>in vitro</i>	28	13	46,4	15	53,6

3.2. Corrélation entre les résultats *in vivo* et *in vitro*

(Tableau 22)

Parmi les 17 souches chloroquinosensibles *in vivo*, 13 se sont révélées chloroquinosensibles *in vitro* et 4 étaient chloroquinorésistantes *in vitro*. Les 11 souches chloroquinorésistantes l'étaient aussi *in vitro*.

Ainsi toutes les souches chloroquinosensibles *in vitro* se sont révélées chloroquinosensibles *in vivo*. Toutes les souches chloroquinorésistantes *in vivo* l'étaient également *in vitro*.

Une bonne corrélation a été ainsi enregistrée entre les réponses *in vitro* et *in vivo* avec 28 souches (87,5 %). Mais des souches résistantes *in vitro* ont été sensibles *in vivo*; leur fréquence par rapport à l'ensemble des souches testées étant de 12,5 % (4 sur 32).

TABLEAU 22 : Comparaison des résultats des tests de sensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine couplés *in vivo* (25 mg/kgp/3 j) et *in vitro* entre 1988 et 1990-1991

	Nombre	Pourcentage
Effectués	28 *	
Sensibles <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	13	46,4
Résistantes <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	11	39,3
Sensibles <i>in vivo</i> et Résistantes <i>in vitro</i>	4	14,3

* 7 tests ont été effectués par la méthode de 38 - 41 heures :

3 S *in vivo* et *in vitro*

3 R *in vivo* et *in vitro*

1 S *in vivo* et R *in vitro*

3.3. Caractéristiques des 4 souches résistantes *in vitro* et sensibles *in vivo* à la chloroquine

Les 4 souches avaient des CMI de chloroquine de 3.2 , 6.4 et 12.8 x 10⁻⁶ mole/l de sang (2 souches). Parmi elles, 3 ont été testées par la méthode de 24 - 26 heures et 1 souche par la méthode de 38 - 41 heures.

Ces souches ont été isolées de 3 enfants et d'un adulte qui hébergeaient tous des gamétocytes de *P. falciparum* aux contrôles de J14, 3 d'entre-eux étaient également porteurs de gamétocytes à J7. Un seul parmi eux en hébergeait à J0.

DISCUSSION

ETUDE IN VITRO

Chloroquine

L'étude de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine *in vitro* effectuée à Dakar entre 1987 et 1994-1995 soit sur une période de 7 ans environ a permis d'enregistrer un taux de prévalence global de souches chloroquinorésistantes de 28,6 % (34 sur 119).

Il est apparu que le taux de chloroquinorésistance qui ne s'élevait qu'à 6,6 % en 1987 a connu un accroissement hautement significatif en 1990-1991 atteignant 72,7 % suivi d'une baisse tout aussi significative en 1994-1995 le situant à 31,7 %.

La faiblesse du taux de prévalence enregistré en 1987 situe l'émergence du phénomène de la chloroquinorésistance à Dakar aux environs de cette période. Mais en l'absence de données antérieures à notre connaissance, il n'est pas possible d'apporter plus de précisions.

Par contre, ces données sont disponibles pour la Région de Kaolack où un taux de prévalence de chloroquinorésistance *in vitro* de 1,4 % (1 souche résistante sur 74 testées) a été obtenu en 1984 par Brandicourt et collaborateurs (14). Il en est de même pour la Région de Ziguinchor où ce taux s'élevait en 1985 à 2,9 % (2 souches sur 70) selon Druilhe et collaborateurs (47).

Tous ces résultats auxquels s'ajoutent celui obtenu par Hatin et collaborateurs (77) à Dakar en 1988, à savoir 7,2 % (3 souches sur 42) de souches chloroquinorésistantes *in vitro* et celui de 11 % (de 67 souches testées) enregistré en Gambie en 1987 par Menon et collaborateurs (100), situent l'émergence de la chloroquinorésistance au Sénégal au milieu des années 1980.

Il apparaît qu'à partir de 1987, date d'isolement de la première souche chloroquinorésistante à Dakar, le taux de prévalence des souches chloroquinorésistantes s'est accru rapidement jusqu'en 1990-1991 pour baisser par la suite tout en restant à un niveau nettement supérieur à celui de

départ. Ainsi en l'espace de 2 à 3 ans, il a atteint les taux élevés habituellement rencontrés en Afrique de l'Est, après plusieurs années d'évolution de la chloroquinorésistance, notamment à Malindi au Kenya où il se situait *in vitro* à 70 % d'après Watkins et collaborateurs (157). En outre il est, en 4 ans seulement, devenu modéré et comparable au taux de 37 % enregistré *in vitro* entre 1987 et 1988 à Zaria au Nigéria, zone de chloroquinorésistance récente, par Lege-Oguntoye et collaborateurs (95) et à celui de 25 % obtenu *in vitro* au Sénégal dans la Région de Fatick (123).

Ce mode d'évolution de la chloroquinorésistance est différent de celui qui a été observé ailleurs en Afrique. En effet, le taux de prévalence de souches chloroquinorésistantes s'est stabilisé par rapport aux forts taux enregistrés à l'émergence de la chloroquinorésistance dans de nombreux pays notamment à Yaoundé au Cameroun lors d'études menées entre 1985 et 1991 (98, 24) et à Brazzaville au Congo entre 1985 et 1993 (27, 31, 98). D'autre part, le taux de prévalence de chloroquinorésistance *in vitro* a plutôt connu une baisse à Mounana au Gabon et à Cotonou au Bénin, entre 1987 et 1989 par rapport aux taux élevés obtenus en 1987 (71, 36).

Cette stabilisation et cette baisse de la chloroquinorésistance ont été constatées quels que soient le lieu de recrutement des sujets et la méthode *in vitro* utilisée. Cependant les études ont été menées dans des zones d'intense transmission du paludisme et où la pression de chloroquine est forte.

Le niveau de chloroquinorésistance atteint en 1990-1991 à Dakar à savoir 72,7 % mérite d'être discuté. En effet Dakar est une zone de faible transmission du paludisme où la propagation de la résistance ne devrait se faire que très lentement alors que cela n'a pas été le cas. Il est possible de l'expliquer par la pression de chloroquine, la période d'étude et surtout au lieu de recrutement des sujets.

En effet, la pression de chloroquine est forte à Dakar car c'est l'antipaludique de première ligne dans le traitement du paludisme au Sénégal et le plus prescrit par les praticiens dans cette ville en 1992 d'après Feller-Dansokho et collaborateurs (50). Cette pression médicamenteuse s'exerce, sous forme de traitements (présomptifs) plus ou moins répétés et plus ou moins bien conduits, essentiellement pendant la saison des pluies.

Mais au décours de cette saison, en l'occurrence notre période d'étude, le réflexe de traitement antipaludique est rare voire absent dans la population, si bien que des accès peuvent survenir chez les sujets traités. Dans une proportion plus ou moins importante il s'agit de rechutes ou de recrudescences étant donné que la résistance *in vivo* à la chloroquine existe au Sénégal depuis 1988 (61,14).

Ces patients vont se présenter au niveau des structures sanitaires où ceux qui remplissent les conditions de sélection dont l'absence d'amino-4-quinoléines dans l'urine sont inclus dans l'étude de chimiosensibilité. C'est donc surtout le mode de recrutement des sujets qui expliquerait les fluctuations des résultats des tests *in vitro*.

D'autre part, l'introduction plus ou moins importante à Dakar de souches de *P. falciparum* chloroquinorésistantes par le biais des mouvements de personnes, pourrait également en partie expliquer ce type d'évolution de la chloroquinorésistance. Il est apparu en effet en 1994-1995 que la quasi-totalité des souches chloroquinorésistantes isolées correspondaient à des sujets qui ont voyagé, avant leur dépistage, dans le Sud du Sénégal où la résistance à la chloroquine se serait développée après son apparition en 1984-1985 (14, 47). Ce phénomène a déjà été observé dans le Sud de l'Iran (48).

Par ailleurs, cette étude a permis d'enregistrer une CI50 moyenne de chloroquine de $0,54 \times 10^{-6}$ mole/l de sang et une moyenne des CMI de $1,37 \times 10^{-6}$ mole/l de sang pour l'ensemble des souches testées. Ces valeurs sont en deçà de la CMI la plus forte qui correspond à une souche chloroquinosensible ($1,6 \times 10^{-6}$ mole/l de sang) (114) ; ce qui témoigne d'une bonne sensibilité globale des souches de *P. falciparum* à la chloroquine à Dakar entre 1987 et 1994-1995.

Elle a en outre révélé un accroissement rapide suivi d'une baisse significative de ces deux paramètres durant la même période. En effet les valeurs enregistrées en 1987 et 1994-1995 sont faibles et indicatrices d'une très bonne sensibilité des souches à la chloroquine.

Par contre, les valeurs obtenues en 1990-1991 sont très élevées et caractéristiques de souches hautement chloroquinorésistantes. C'est ainsi que la CI50 moyenne ($1,66 \times 10^{-6}$ mole/l de sang) est proche de la CI50 moyenne de chloroquine obtenue à Malindi au Kenya qui se situe à 180,7 nmol/l de milieu d'après Watkins et collaborateurs (157), ce qui correspond à $1,807 \times 10^{-6}$ mole/l de sang. D'autre part, la moyenne des CMI de chloroquine ($4,39 \times 10^{-6}$ mole/l de sang) est évocatrice de résistance à la chloroquine de niveau RII-RIII *in vivo* (161).

Ce type d'évolution sinusoïdale des concentrations inhibitrices moyennes de chloroquine est surprenante étant donné que la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine est polygénique. Cette évolution est tout à fait superposable à celle du taux de prévalence des souches chloroquinorésistantes qui a été discutée précédemment. C'est pourquoi, les mêmes explications pourraient lui être appliquées. Pour conforter ces explications, il est important de noter la présence de souches résistantes à des concentrations élevées de chloroquine dès 1987 et 1988 à Dakar (CMI supérieure ou égale à $6,4 \times 10^{-6}$ mole/l de sang).

Ailleurs en Afrique, c'est généralement une stabilité de la CI50 moyenne de chloroquine qui a été observée notamment à Brazzaville au Congo (31) et à Limbe et Kribi au Cameroun (20).

Amodiaquine

Nous avons enregistré 8 souches de *P. falciparum* amodiaquinorésistantes *in vitro* sur 109 testées à Dakar entre 1987 et 1994-1995, ce qui correspond à 7,3 %. Durant les 4 périodes d'étude considérées, le taux de prévalence des souches amodiaquinorésistantes n'a pas varié de façon significative : ce qui traduit une stabilité de l'amodiaquinorésistance.

Il apparaît ainsi que l'amodiaquinorésistance *in vitro* existe à Dakar mais à l'état sporadique et que son émergence peut être située en 1987. Cette dernière s'est faite bien que la pression médicamenteuse soit faible du fait que l'amodiaquine a été peu ou rarement prescrite au Sénégal.

Cette émergence peut s'expliquer par la pression de chloroquine et la présence possible de mutants amodiaquinorésistants à Dakar du fait que l'amodiaquine a été utilisée pendant plusieurs décennies au Sénégal et qu'il existe une résistance croisée partielle entre l'amodiaquine et la chloroquine (66,91). Aussi, l'utilisation importante de chloroquine à des doses infrathérapeutiques peut entraîner chez des porteurs non immuns de *P. falciparum*, la sélection de parasites de sensibilité diminuée ou de parasites résistants à la chloroquine dont certains porteraient des gènes de résistance à l'amodiaquine. C'est ainsi que parmi les souches chloroquinorésistantes que nous avons isolées deux s'étaient avérées amodiaquinorésistantes.

Concernant la stabilité de l'amodiaquinorésistance, elle peut s'expliquer par une émergence relativement récente de la chloroquinorésistance et surtout en partie par la faible pression exercée par l'amodiaquine à Dakar pour les mêmes raisons que nous avons précédemment indiquées.

Cette stabilité de l'amodiaquinorésistance contraste avec la propagation de la chloroquinorésistance durant la même période avec pratiquement les mêmes souches. Ainsi les taux de prévalence des souches de *P. falciparum* amodiaquinorésistantes et chloroquinorésistantes étaient d'une part faibles et comparables en 1987 (6,2 % contre 6,6 %), et d'autre part, le taux des souches chloroquinorésistantes était nettement plus élevé ultérieurement (72,7 % contre 4,8 % en 1990-1991).

Cette bonne sensibilité *in vitro* à l'amodiaquine des souches de *P. falciparum* se retrouve également dans des pays où elle est peu utilisée, en zones de chloroquinorésistance faible ou d'apparition récente (8, 73, 125) et en zones de forte chloroquinorésistance (35, 142, 157). C'est ainsi qu'en Guinée équatoriale où la chloroquinorésistance a fait son apparition en 1990 et se situait à 9 % *in vitro* entre 1990 et 1992 à Bata, le pourcentage de souches amodiaquinorésistantes était de 6,5 % (8). D'autre part, à Malindi au Kenya toutes les souches de *P. falciparum* isolées s'étaient révélées chloroquinorésistantes et amodiaquino-sensibles (142, 157).

En revanche, dans certains pays où la chloroquinorésistance est forte et existe généralement depuis longtemps, les taux de prévalence des souches

amodiaquinorésistantes sont nettement plus élevés notamment en Afrique centrale et de l'Est. A Yaoundé au Cameroun, par exemple, le taux des souches résistantes à l'amodiaquine *in vitro* obtenu en 1990 par Caligaris et collaborateurs (24) était de 29 %, la chloroquinorésistance y étant de 40 % à la même période et de 60 % en 1987 et 1988 selon les mêmes auteurs.

En Tanzanie et plus précisément à Amani, Fowler et collaborateurs (58) ont signalé un taux d'amodiaquinorésistance *in vitro* de 45 %. La chloroquino-résistance apparue dans ce pays depuis les années 1970 y est très forte d'après de nombreux auteurs (142, 157).

Pour expliquer cette coexistence d'une forte résistance à la chloroquine et d'une résistance à l'amodiaquine assez importante dans ces pays, il est possible d'évoquer la pression médicamenteuse. En effet, du fait de l'extension de la chloroquinorésistance dans ces pays, l'amodiaquine a été de plus en plus utilisée dans le traitement de l'accès palustre, ce qui pourrait être à l'origine de l'émergence et de l'extension de l'amodiaquinorésistance dans ces zones de forte transmission du paludisme de surcroît.

S'agissant de la CI50 moyenne et de la moyenne géométrique des CMI d'amodiaquine, elles sont respectivement de 0,21 et 0,54 X 10⁻⁶ mole/l de sang pour l'ensemble des souches étudiées. Ces valeurs qui n'ont pas varié de façon significative avec la période d'étude sont en-deçà de la CMI d'amodiaquine la plus forte qui correspond à une souche sensible (0,8 X 10⁻⁶ mole/l de sang). Ce qui traduit une bonne sensibilité de *P. falciparum* à l'amodiaquine au Sénégal.

Il est apparu que la quasi-totalité des souches amodiaquinorésistantes se sont révélées sensibles à la chloroquine. Inversement, la quasi-totalité des souches chloroquinorésistantes se sont révélées sensibles à l'amodiaquine.

La sensibilité *in vitro* à l'amodiaquine de souches résistantes à la chloroquine a déjà été signalée au Kenya (142, 157), à Madagascar (125), en Thaïlande (35).

La sensibilité à la chloroquine de souches résistantes à l'amodiaquine *in vitro* observée a déjà été rencontrée au Togo (73).

Il apparaît ainsi que la résistance croisée entre la chloroquine et l'amodiaquine n'est pas de règle (91), chaque type de résistance évoluant de façon indépendante.

Le fait que deux souches de *P. falciparum* se sont avérées à la fois résistantes à la chloroquine et à l'amodiaquine, pose le problème de l'existence probable à Dakar d'une polychimiorésistance de ce parasite.

Quinine

Les 100 souches de *P. falciparum* testées *in vitro* avec la quinine à Dakar se sont révélées toutes sensibles.

Nous n'avons pas donc retrouvé à Dakar la quininorésistance *in vitro* signalée pour la première fois au Sénégal à Thiès en 1984 (1 souche sur 15) puis à Kaolack et Thiès en 1985 par respectivement Brandicourt et collaborateurs (14) et Druilhe et collaborateurs (47) et à Paris entre 1980 et 1986 par Le Bras et Savel (91), travaillant sur des souches en provenance du Sénégal.

Cette situation d'absence de la quininorésistance *in vitro* s'est retrouvée dans d'autres pays africains lors d'études menées entre 1985 et 1990, notamment la Gambie (100), le Nigéria (55), le Gabon (47), le Congo (27), le Kenya (81).

Cependant des taux de prévalence faibles à modérés de quininorésistance *in vitro* ont été enregistrés dans plusieurs pays africains entre 1987 et 1993 notamment à Yaoundé au Cameroun (24, 98), à Brazzaville au Congo (29, 31), à Bioko en Guinée équatoriale (8), à Amani en Tanzanie (54) et récemment au Sénégal (123).

Pour expliquer cette bonne sensibilité de *P. falciparum* à la quinine au Sénégal, on peut évoquer une faible pression médicamenteuse. En effet, les sels de quinine sont généralement utilisés sous forme injectable, et ne sont administrés que sur prescription médicale en cas de paludisme grave ou d'accès palustre avec vomissements. Mais dans les deux cas la quinine est

relayée par la chloroquine dès que l'état du patient s'améliore. Ce qui réduit considérablement la pression de quinine.

Toutefois, dans les pays où existe la quiniorésistance qui ont été cités précédemment, la pression de quinine était également faible comme l'ont souligné la plupart des auteurs. En tout cas, cette résistance à la quinine a été généralement observée en zone de chloroquinorésistance.

S'agissant de la CI50 moyenne de quinine et de la moyenne des CMI de quinine elles se situent respectivement à 3,05 et 11,22 X 10⁻⁶ mole/l de sang pour l'ensemble des souches testées. Ces concentrations ont augmenté de façon significative entre 1987 et 1990-1991. Cependant, les valeurs obtenues en 1990-1991 à savoir 5,43 et 18,1 X 10⁻⁶ mole/l de sang respectivement, sont nettement plus faibles que la CMI de quinine la plus forte qui correspond à une souche quinosensible (51,2 X 10⁻⁶ mole/l de sang) (114). Ceci indique une très bonne sensibilité moyenne des souches locales de *P. falciparum* à la quinine.

Il est apparu que toutes les souches chloroquinorésistantes et amodiaquinorésistantes se sont révélées très quinosensibles avec des CMI de quinine parfois inférieures à celles des souches sensibles aux deux antipaludiques.

Nous avons en outre enregistré en 1990-1991 72,7 % de souches résistantes à la chloroquine sans qu'aucune d'elles ne soit résistante à la quinine.

Il ne semble pas donc exister au vu de ces résultats un lien de cause à effet entre la chloroquinorésistance même forte et l'apparition de la quiniorésistance. La même constatation avait été faite en Thaïlande par Webster et collaborateurs (159).

Méfloquine

Sur les 110 souches de *P. falciparum* évaluées *in vitro* avec la méfloquine entre 1987 et 1994-1995 à Dakar, aucune ne s'est révélée résistante.

Cette bonne sensibilité des souches sénégalaises à la méfloquine avant et après son introduction au Sénégal est confirmée par les travaux d'autres auteurs (77, 118).

Cependant des souches présentant une baisse de sensibilité à la méfloquine ont été isolées à Dakar mais elles étaient sensibles *in vivo* (77).

Cette sensibilité *in vitro* à la méfloquine des souches de *P. falciparum* a été constatée dans d'autres pays africains, en général, avant l'introduction de ce produit, particulièrement au Mali (45), au Libéria (12), au Nigéria (55, 96), au Congo (27), au Kenya et en Tanzanie (54).

Dans des pays parfois situés dans des zones où la méfloquine n'a jamais été utilisée auparavant et/ou n'est pas couramment utilisée, des souches résistantes *in vitro* ont été signalées notamment au Bénin (36, 72), au Nigéria (131, 141), au Cameroun (18, 19, 24, 98), au Congo (29, 31), en Tanzanie (82) et récemment au Sénégal (123).

Certains de ces résultats (obtenus avec des méthodes microscopiques) sont discutables du fait que les concentrations seuils de résistance à la méfloquine prises en compte étaient très faibles. C'est ainsi que reprenant des études faites à Ibadan au Nigéria dans la même zone et à la même période, Lege-Oguntoye et collaborateurs (96) n'ont pas rencontré de souches méfloquinorésistantes en utilisant le seuil actuellement préconisé à savoir une CMI de méfloquine supérieure à $12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang (114). Toutefois, la méfloquinorésistance *in vitro* a été confirmée *in vivo* dans le Nord Cameroun par Bresseur et collaborateurs (19).

S'agissant de notre étude, la CI50 moyenne de méfloquine ($0,75 \times 10^{-6}$ mole/l de sang) et la moyenne des CMI ($2,13 \times 10^{-6}$ mole/l de sang) des souches testées sont apparues très inférieures à la CMI la plus forte qui

correspond à une souche méfloquinosensible ($12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang). Ceci indique une très bonne sensibilité moyenne des souches de *P. falciparum* à la méfloquine *in vitro* et correspond ainsi à une réponse très sensible au traitement standard de méfloquine (25 mg/kgp/3j).

Par ailleurs, nous avons constaté que les souches chloroquino-résistantes que nous avons isolées sont en moyenne plus sensibles à la méfloquine que les souches chloroquinosensibles. Ce qui est confirmé par les observations effectuées par Monson et collaborateurs (103) au Nord Libéria et par Ayoande et collaborateurs (1989) à Limbe au Cameroun sur des souches sauvages et sur des clones de *P. falciparum*. Ce phénomène aurait comme support le gène *P. falciparum* multidrogue résistant 1 (2).

Etudes *in vivo*

Les études *in vivo* ont permis d'enregistrer sur 97 tests effectués entre 1988 et 1994-1995 à Dakar 29 cas de chloroquinorésistance soit un taux global de la chloroquinorésistance de 29,9 %. Ce qui correspond à environ une souche de *P. falciparum* résistante sur 3 testées et donc à une chloroquino-résistance modérée.

Elles ont également révélé une variation du taux de prévalence de la chloroquinorésistance selon la période d'étude qui, de 8,0 % en 1988 a atteint 51,4 % en 1990-1991 pour se situer à 24,3 % en 1994-1995.

Cette augmentation significative suivie d'une baisse tout aussi significative du taux de prévalence de la chloroquinorésistance *in vivo* à Dakar et Pikine a été également observée par Gaye et collaborateurs (62, 63) et Trape et collaborateurs (sous presse) qui ont effectué des tests entre 1988 et 1992.

Pour expliquer ce type de variation de la chloroquinorésistance, nous pensons qu'il y a eu un réel accroissement en 1990-1991 mais l'importance du niveau atteint est imputable à un biais dans le recrutement des patients comme nous l'avons signalé précédemment à l'occasion de la discussion des résultats des tests *in vitro*.

En tout cas ces fortes variations de prévalence de la chloroquinorésistance d'une période d'étude à l'autre montre bien qu'avec la méthode habituelle de recrutement des patients à traiter, il s'avère nécessaire de prendre en compte les résultats de plusieurs années pour établir le taux de prévalence réel de la chloroquinorésistance. Sinon, il faudrait être très rigoureux sur les critères d'inclusion et exclure tout patient ayant reçu de la chloroquine dans les 30 jours précédant le dépistage pour éviter de traiter des cas de rechute et/ou de recrudescence après un traitement antérieur par ce produit.

Nous avons administré à la suite d'autres auteurs (28), une dose de chloroquine supérieure à la dose standard à savoir 42 mg/kgp répartie en prises journalières durant 5 jours consécutifs en vue d'améliorer les résultats obtenus par Gaye et collaborateurs (63) en 1992 dans la même zone avec celle de 25 mg/kgp en 3 jours, à savoir un taux de chloroquinorésistance de 24,0 %.

Les résultats escomptés n'ont pas été atteints, ce qui confirme les résultats d'études ayant montré que l'augmentation de la dose de chloroquine ne permettait pas d'obtenir une meilleure efficacité. Son seul effet serait de retarder la date d'apparition des cas de recrudescence pour certains auteurs (39, 41).

S'agissant des cas de résistance rencontrés, ceux de niveau RI étaient légèrement plus fréquents que ceux de niveau RII (51,8 % contre 48,2 %). Il n'y a pas eu donc de cas de résistance de niveau RIII.

Bien que des cas de chloroquinorésistance de niveau RIII aient été signalés au Sénégal (147, 148), il n'en demeure pas moins qu'un certain nombre de niveaux RI et RII ont été caractérisés par la présence de la fièvre ; cela bien qu'une baisse significative de la parasitémie ait été enregistrée. Tous ces cas ont guéri simplement après administration de l'association sulfadoxine-pyriméthamine principalement.

Ce type d'échec thérapeutique a été également observé à Dakar et Pikine par Gaye et collaborateurs (61, 62, 63) et Trape et collaborateurs (147).

Tests couplés *in vivo* / *in vitro*

Les tests couplés *in vivo* / *in vitro* effectués à Dakar sur 28 souches de *P. falciparum* ont permis d'enregistrer un taux de prévalence des souches chloroquinorésistantes plus élevé *in vitro* qu'*in vivo* : 52,5 % contre 39,3 %.

Les tests *in vitro* se sont ainsi révélés plus sensibles que les tests *in vivo* pour déceler des souches chloroquinorésistantes. En effet, 4 souches chloro-quinorésistantes *in vitro* étaient chloroquinosensibles *in vivo*.

Cette plus grande sensibilité des tests *in vitro* se retrouve donc même dans une zone de très faible endémicité palustre comme Dakar (43). L'explication généralement évoquée à savoir l'existence d'une immunité de prémunition antipalustre agissant en synergie avec l'anti-paludique devrait donc être nuancée.

Effectivement, d'autres explications sont, ici, envisageables parmi lesquelles l'utilisation d'un test *in vivo* de 14 jours qui n'a pas permis de prendre en compte les cas éventuels de chloroquinorésistance plus tardifs, c'est-à-dire au delà du 14^e jour d'observation, la faible sensibilité de la goutte épaisse.

Par ailleurs, il est apparu que toutes les souches chloroquinosensibles *in vitro* l'ont été également *in vivo*. Ce qui témoigne d'une absence de réinfestation des sujets porteurs de ces souches. Celle-ci suggère que, dans la zone d'étude et à la même période, les cas de résistance de niveau RI tardif seront dûs à une recrudescence de la parasitémie plutôt qu'à une réinfestation.

Après tout, pour avoir une idée plus précise du taux de prévalence de chloroquinorésistance à Dakar, il est nécessaire d'effectuer des tests *in vivo* de 14 jours et des tests *in vitro*, sinon de faire des tests *in vivo* de 28 jours.

CONCLUSIONS GENERALES

De 1987 à 1995, nous avons étudié la sensibilité de *Plasmodium falciparum* aux antimalariques usuels dans les départements de Dakar et Pikine où les premiers cas de résistance *in vivo* de cette espèce à la chloroquine ont été observés en 1988.

L'étude a consisté à faire des tests *in vitro* sur des souches isolées de patients présentant un accès palustre avec la chloroquine, l'amodiaquine, la quinine et la méfloquine parallèlement à des tests *in vivo* à la chloroquine.

Elle s'est déroulée durant quatre périodes, à savoir 1987, 1988-1989, 1990-1991 et 1994-1995 au cours desquelles des tests *in vivo* et *in vitro* ont été pratiqués sauf en 1987 où seuls des tests *in vitro* ont été effectués.

Le recrutement pour Dakar a été effectué parmi les patients venus consulter principalement dans les dispensaires des quartiers Rebeuss, HLM-Gibraltar et Derklé ou recrutés à domicile pour les tests *in vivo* réalisés en 1994-1995.

A Pikine, il a eu lieu au dispensaire Notre Dame du Cap-Vert qui reçoit des patients de tous les quartiers de cette ville et même de Thiaroye et ses environs.

Il a porté sur des sujets présentant un accès palustre simple avec une parasitémie supérieure ou égale à 1 000 trophozoïtes de *P. falciparum* /mm³ de sang chez qui la recherche d'amino-4-quinoléines dans l'urine était négative. Tous les patients recrutés sur la base de critères d'inclusion rigoureux ont été selon les circonstances soumis soit aux tests *in vivo* soit aux tests *in vitro* ou aux deux tests à la fois.

Pour les tests *in vitro* c'est la microméthode de l'OMS et une variante de celle-ci qui ont été utilisées pour tester les souches de *P. falciparum* vis-à-vis des quatre antipaludiques étudiés.

Les tests *in vivo* ont consisté à administrer la dose totale de chloroquine base de 25 mg/kgp en 3 jours selon le protocole préconisé par l'OMS sauf en 1994-1995, où elle a été remplacée par celle de 42 mg/kgp

répartie en 5 prises journalières (500 mg/jour chez l'adulte) durant 5 jours consécutifs.

S'agissant des tests *in vitro*, ils ont été réalisés avec succès sur 120 souches, pendant la durée de l'étude, parmi lesquelles 119 en présence de chloroquine, 109 d'amodiaquine, 100 de quinine et 110 de méfloquine.

Ce qui a permis d'enregistrer pour la chloroquine un taux global de souches résistantes de 28,6 % (CMI supérieure à $1,6 \times 10^{-6}$ mole/l de sang), une CI50 moyenne globale de $0,54 \times 10^{-6}$ mole/l de sang et une moyenne des CMI de $1,37 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

Pour l'amodiaquine, 8,3 % des souches étaient résistantes (CMI supérieure à $0,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang), la CI50 moyenne des souches testées était de $0,21 \times 10^{-6}$ mole/l de sang et la moyenne des CMI de $0,40 \times 10^{-6}$ mole/l de sang.

Les résultats pour la quinine et la méfloquine étaient de 0 % de souches résistantes (CMI égale ou inférieure respectivement à $51,2$ et $12,8 \times 10^{-6}$ mole/l de sang), la CI50 moyenne et la moyenne des CMI s'élevant respectivement à $3,05$ et $11,22 \times 10^{-6}$ mole/l de sang pour la quinine et à $0,75$ et $2,13 \times 10^{-6}$ mole/l de sang pour la méfloquine.

Tous ces paramètres, à savoir le taux des souches résistantes, la CI50 moyenne et la moyenne des CMI, ont subi des variations d'une période d'étude à l'autre mais en général celles-ci étaient surtout significatives avec la chloroquine. Ce qui est imputable à un biais dans le recrutement des patients chez qui il n'a pas été possible de distinguer ceux qui présentaient un accès faisant suite à une rechute tardive ou à une recrudescence tardive après traitement de ceux qui recevaient un antipaludique pour la première fois et qui devraient être les seuls à subir les tests.

D'autre part, nous avons constaté l'absence de corrélation entre les CMI des couples d'antipaludiques à l'exception du couple quinine-chloroquine avec lequel une corrélation positive significative a été observée avec les CMI.

Il a été constaté que dans la majorité des cas les souches chloroquinorésistantes étaient sensibles à l'amodiaquine et que celles amodiaquinorésistantes étaient sensibles à la chloroquine. En outre, les souches résistantes à l'amodiaquine et à la chloroquine étaient sensibles à la quinine et à la méfloquine.

En ce qui concerne les tests *in vivo* avec la chloroquine, ils ont intéressé durant la même période que précédemment 97 patients dont 28 ont pu subir un test *in vitro* avec le même produit.

Des patients ayant subi le test *in vivo* 29,9 % (29 patients) hébergeaient des souches résistantes et les autres des souches sensibles pour l'ensemble des périodes d'étude. Mais il a été constaté des variations significatives de la prévalence des souches chloroquinorésistantes selon la période d'étude comme pour les tests *in vitro* à mettre également sur le compte du mode de recrutement des patients ayant subi le test comme précédemment indiqué.

Concernant les 29 cas de chloroquinorésistance, 51,8 % étaient de niveau RI et 48,2 % de niveau RII. Il n'y en avait pas de niveau RIII. Parmi eux, 48,2 % étaient apyrétiques. Chez les autres (51,8 %) qui présentaient une hyperthermie la guérison a été obtenue dans la plupart des cas après l'administration de l'association sulfadoxine-pyriméthamine.

Les cas de chloroquinorésistance ont été observés avec la même fréquence chez les enfants et les adultes.

Par ailleurs, les tests couplés *in vivo* et *in vitro* à la chloroquine ont montré que toutes les souches qui ont été sensibles à la chloroquine *in vitro* l'étaient aussi *in vivo* mais qu'il y avait plus de souches résistantes *in vitro* qu'*in vivo*. Ce dernier résultat est généralement enregistré dans des zones où les populations ont un certain degré de prémunition qui accroît l'effet des antipaludiques. Ce qui n'est pas le cas de la ville de Dakar où le paludisme sévit sous forme hypoendémique très faible. L'origine non autochtone des cas de paludisme qui y sont observés est hautement possible.

Au vu de ces résultats et de leurs appréciations, il est possible de faire les remarques et recommandations ci-après :

1) Il est nécessaire pour avoir des données plus fiables sur le niveau de sensibilité des souches de *P. falciparum* à Dakar d'inclure des patients qui n'ont pas reçu un antimalarique dans les 30 jours qui ont précédé la date de leur recrutement.

Pour ce faire, il faudrait éviter de recruter pour les tests dans les hôpitaux et les formations sanitaires réputées qui reçoivent généralement des patients ayant déjà été traités mais sans succès, ou alors d'exclure les patients déjà traités et de réaliser les tests sur une période plus longue couvrant la saison des pluies et le décours de celle-ci.

Un dépistage systématique dans les écoles ou à domicile pourrait permettre d'administrer aux sujets dépistés leur première dose d'antimalarique.

2) Puisque à Dakar, la chloroquinorésistance est globalement modérée (environ 2 souches sur 3 sont sensibles *in vitro* et *in vivo*) et qu'il n'y a pas de résistance du niveau RIII, la chloroquine devrait être maintenue en première ligne dans le traitement des accès palustres simples. Mais il faudrait prendre la précaution d'interroger les patients pour éviter de l'administrer dans des cas de rechute ou de recrudescence à la suite d'un traitement antérieur avec ce produit.

En cas d'administration de chloroquine, les patients devront être revus à J3 puis à J7 et J14 pour passer à un antimalarique efficace si l'état clinique ne s'améliore pas et/ou si la parasitémie persiste même sans manifestation clinique.

3) L'amodiaquine qui s'est révélée efficace sur 92,7 % des souches testées *in vitro* et sur la majorité des souches chloroquinorésistantes *in vitro* pourrait être administrée en lieu et place de la chloroquine pour réduire la pression de chloroquine et partant le taux de chloroquinorésistance.

4) Il faudrait continuer à réserver la quinine aux cas graves et compliqués de paludisme pour que cet antipaludique puisse pendant longtemps encore conserver son efficacité et maintenir en réserve la méfloquine.

BIBLIOGRAPHIE

1. **ADEROUNMU A.F., SALAKO L.A., ADELUSI S.A.**
Chloroquine sensivity of *Plasmodium falciparum* in Ibadan Nigeria.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1980, **74**, 393 - 395
2. **BARNES D.A., FOOTE S.J., GALATIS D., KEMP D.J., COWMAN A.F.**
Selection for high level chloroquine resistance results in deamplification of the *pfmdr 1* gene and increased sensitivity to mefloquine in *P. falciparum*.
The EMBO Journal 1992, **11** (8), 3067-3075.
3. **BASCO L.K., LE BRAS J.**
Desipramine or cyproheptadine for reversing chloroquine resistance ?
Lancet, 1990 , ii, 422.
4. **BASCO L.K. and LE BRAS J.**
Reversal of chloroquine resistance with desipramine in isolates of *Plasmodium falciparum* from Central and West Africa.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1990, **84**, 479 - 481.
5. **BASS C.C. and JOHNS F.M.**
The cultivation of malaria plasmodia (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*) *in vitro*.
J. Exper. Med. , 1912, **16**, 567 - 579.
6. **BAUDON D., DEVOUCOUX R., ROUX J., SONDO B.**
Etude de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine dans une zone de savane de Haute-Volta à paludisme hyperendémique. Utilisation des tests *in vivo* et *in vitro*. Mise en évidence d'une souche résistante *in vitro* .
Bull. Soc. Path. Ex., 1984, **77** (5), 658-665.
7. **BAUDON D., GUIGUEMDE T.R., CARNEVALE P., GBARY A.R.**
Proposition pour une stratégie de surveillance de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* au Burkina - Faso.
Doc. Techn. O C C G E n° 8 700 / Avril 1985, pp 1 - 15.

8. **BENITO A., ROCHE J., MOLINA R., AMELA C., ALVAR J.**
In vitro susceptibility of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, amodiaquine, quinine, mefloquine and sulfadoxine pyrimethamine in Equatorial Guinea.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1995, **53** (5), 526-531.

9. **BERGER M., BEYTOUT J., RINGWALD P., CAMBON M., REY M.**
 Un cas de paludisme à *Plasmodium falciparum* contracté en Guinée-Bissau survenant sous chimioprophylaxie par la chloroquine (letter).
Presse Med., 1990, **19** (36), 1682.

10. **BERT MUDLER, GAZIN P., TEUNIS A. EGGELTE and MICHEL COT**
 Increase of chloroquine resistance *in vivo* of *Plasmodium falciparum* over two years in Edea, South Africa.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1992, **86** (4), 376-377.

11. **BEYTOUT J., ARZOUNI J.P., CAMBON M., RINGWALD P., SALORD F., PEYRAMOND D.**
 Paludisme grave à *Plasmodium falciparum* chloroquinorésistant contracté au Sénégal.
Presse Méd., 1989, **18** (24), 1210.

12. **BJÖRKMAN A. and WILLAX M.**
In vitro susceptibility of *Plasmodium falciparum* to amodiaquine, mefloquine, quinine and chloroquine in Liberia, West Africa.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1983.

13. **BOUDREAU E.F., WEBSTER H.K., PAVANAND K., THOSINGHA L.**
 Type II mefloquine resistance in Thailand.
Lancet, 1982, **ii**, 1355.

14. **BRANDICOURT O., DRUILHE P., DIOUF F., BRASSEUR P., TURK P., DANIS M.**
 Decreased sensitivity to chloroquine and quinine of some *Plasmodium falciparum* strains from Senegal in september 1984.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1986, **35** (4), 717 - 721.

15. **BRANDICOURT O., CARME B., GAY F., TURK P., GENTILINI M.**
Widespread *in vitro* resistance to chloroquine of *Plasmodium falciparum* in the Congo, 1987.
Trop. Med. Parasitol., 1991, **42** (1), 55 - 59.
16. **BRANDLING-BENNETT A.D., OLOO A.J., WATKING W.M., BORIGA D.A., KARIUKI D.M., COLLINS W.E.**
Chloroquine treatment of *falciparum* malaria in an area of Kenya of intermediate chloroquine resistance
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1988, **82** (6) , 833 - 837.
17. **BRASSEUR P., DRUILHE P., KOUAMOUO J., BRANDICOURT O., DANIS M. and MOYOU-SOMO R.**
High level of sensitivity to chloroquine of 72 *Plasmodium falciparum* isolates from southern Cameroon in January 1985.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1986, **35** (4), 711 - 716.
18. **BRASSEUR P., KOUAMOUO J., BRANDICOURT O., MOYOU-SOMO R., DRUILHE P.**
Patterns of *in vitro* resistance to chloroquine, quinine and mefloquine of *Plasmodium falciparum* in Cameroon, 1985 - 1986.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1988, **39** (2) , 166 - 172.
19. **BRASSEUR P.; KOUAMOUO J., MOYOU R.S. AND DRUILHE P.**
Emergence of mefloquine-resistant malaria in Africa without drug pressure.
Lancet , 1990, **ii** , 336 , 59.
20. **BRASSEUR P., KOUAMOUO J., MOYOU-SOMO R. and DRUILHE P.**
Multi-drug resistant falciparum malaria in Cameroon in 1987-1988
I. stable figures of prevalence of chloroquine and quinine-resistant isolates in the original foci.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1992, **46** (1), 1-7.

21. **BROOKS M.H., MALLON J.P., BARTOLLENI P.J.**
Quinine, pyrimethamine and sulphadiméthoxine : clinical response, plasma levels and urinary excretion during initial attack of naturally acquired *falciparum* malaria.
Clinical Pharmacology and Therapeutics , 1969, **10**, 85 - 91.
22. **BRYSKIER A., LABRO M.T.**
Paludisme et médicaments.
Paris: Arnette, 1988. 276 p.
23. **BYGBJERG I.C., SCHAPIRA A., FLACHS H., GOMME G., JEPSEN S.**
Mefloquine resistance of *falciparum* malaria from Tanzania enhanced by treatment.
Lancet . 1983, **i**, 774 - 775.
24. **CALIGARIS S., FADAT G., MATTEELLI A., CASTELLI F.,
KOUKA BEMBA D., CAROSI G.**
Etude de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* aux antimalariques dans la ville de Yaoundé (Cameroun).
Bull. Soc. Path. Ex., 1992, **85** (4) , 279-280.
25. **CAMPBELL C.C., COLLINS W.E., CHIN W., TEUTSCH S.M.,
MOSS D.M.**
Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* from Est Africa : cultivation and drug sensitivity of the Tanzanian I/CDC Strain from an American Tourist.
Lancet 1979, **ii** , 1151 - 1154.
26. **CARLIN J.M., VANDE WAA J.A., JENSEN J.B., AKOOD M.A.**
African serum interference in the determination of chloroquine sensitivity in *Plasmodium falciparum*.
Z. Parasitenkd 1984, **70** (5), 589 - 597.

27. CARME B., MOUDZEO H., MBITSI A., SATHOUNKAZI C.,
 NDOUNGA M., BRANDICOURT O., GAY F., LE BRAS J.,
 GENTILINI M.
 La résistance médicamenteuse de *Plasmodium falciparum* au Congo. Bilan
 des enquêtes réalisées de 1985 à 1989.
Bull. Soc. Path. Ex., 1990, **83** (2) , 228 -241.
28. CARME B., SATHOUNKASI C., MBITSI A., NDOUNGA M.,
 GAY F., CHANDENIER J., SCHIMMIT J.L., and SAMBA G.
 Efficacité comparée de la chloroquine et de l'amodiaquine (25 et 35 mg/kg)
 chez des écoliers porteurs de *P. falciparum* (Brazzaville, Mars 1990).
Bull. Soc. Path. Ex., 1991, **84**, 77-79.
29. CARME B., CHANDENIER J., CICERON L., SCHMIT J.L., GAY F.,
 NDOUNGA M., EBIKILI B., GENTILINI M.
 Unexpected trend in chemosensitivity of *Plasmodium falciparum* in
 Brazzaville, Congo.
Lancet, 1991, **338**, 582-583.
30. CARME B., DHELLOT H., SENG A J., NZINGOULA S., PLASSART H.
 Efficacité de la quinine au cours des accès palustres de l'enfant hospitalisé à
 Brazzaville (Congo) en 1989.
Ann. Soc. belg. Med. Trop., 1991, **71** (1) , 11 - 16.
31. CHANDENIER J., NDOUNGA M., CARME B., GAY F., MBITSI A.,
 HAYETTE M.-P., STANGHELLINI A., OSSOH J.O., BAUDON D.,
 ZITSAMELE R.C.
 Chimiosensibilité *in vivo* et *in vitro* de *Plasmodium falciparum* à
 Brazzaville(Congo).
Cahiers Santé, 1995, **5** (1), 25-29.
32. CHARMOT G., RODHAINI F.
 La chimiorésistance chez *Plasmodium falciparum*. Analyse des facteurs
 d'apparition et d'extension.
Méd. Trop., 1982, **42** (4), 417-426.

33. **CHARMOT G., COULAUD J.P.**
Propositions thérapeutiques dans le paludisme à "*Plasmodium falciparum*".
Le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* en Afrique (à l'exception des formes pernicieuses).
Méd. Trop., 1990, **30** (1), 103 - 108.
34. **CHILDS G.E. and WEBSTER H.K.**
In vitro assay of antimalarials : Technologies, applications and prospects.
Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth, 1986, **17** (4), 515 - 523.
35. **CHILDS G. E., BOUDREAU E.F., MILHOUS W K.,
WIMON WATTRATEE T., POOYINDEE N., PANG L.,
DAVIDSON D.E. Jr .**
A comparison of the *in vitro* activities of amodiaquine and desethyl amodiaquine against isolates of *Plasmodium falciparum*.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1989, **40** (1), 7 -11.
36. **CHIPPAUX J.- P., MASSOUGBODJI A., AKOGBETO M., JOSSE R.,
ZOHOUN T., SADELER B-C.**
Evolution de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine et à la méfloquine au Bénin entre 1980 et 1989.
Bull. Soc. Path. Ex., 1990, **83** (3), 320 - 329.
37. **CHONGSUPHAJASIDDHI T., SABCHAREON A., ATTANATHA P.**
In vitro and *in vivo* sensitivity of *Plasmodium falciparum* malaria to quinine in Thai children.
Ann. Trop. Ped., 1981, **1**, 21 - 26.
38. **CHURCHILL F.C., PATCHEN L.C., CAMPBELL C.C.,
SCHWARTZ I.K., NGUYEN-DINH P. and DICKIN-SON C.M.,**
Amodiaquine as a prodrug : Importance of metabolite (s) in the antimalarial effect of amodiaquine in humans.
Life Sci., 1985, **36**, 53-62.

39. COOSEMANS M.H., HENDRIX L., BARUTWANAYO M.,
BUTOYI G.et ONORI, E.
Résistance médicamenteuse de *Plasmodium falciparum* au Burundi (Afrique
Centrale).
Bull. Wld Hlth Org., 1985, **98**, 331-333.
40. DANIS M., DUFLO B.
Paludisme. Actualité de la chimiothérapie.
Rev. Prat. (Paris), 1988, **38** (18), 1164-1167.
41. DE ANDRADE J.G., DE ANDRADE A.L., ARANJO E.S.,
OLIVERA R.M., SILVA S.A., MARTELI C.M., ZICKER F.
A randomized clinical trial with high dose of chloroquine for treatment of
Plasmodium falciparum malaria in Brazil.
Revista do Instituto de Medecina Tropical de Sao Paulo, 1992, **34** (5),
467-473.
42. DESJARDINS R.E., CANFIELD C.J., HAYNES J.D. and CHULAY J.D.
Quantitative Assessment of Antimalarial Activity *In Vitro* by a Semi-
automated Microdilution Technique.
Antimicrob. Agents and Chemother., 1979, **16** (6), 710 - 718.
43. DIALLO S., NDIR O., DIENG Y., BA F.D., BAH I.B., DIOP B.M.,
GAYE O., DIENG Th.
Prévalence du paludisme à Dakar (Sénégal). Etude comparative des indices
plasmodiques chez des femmes enceintes et non enceintes.
Dakar Médical, 1995, **40**, 2, 123-128.
44. DIEME Y.
*Analyse compartimentale des systèmes biologiques. Application à un
nouvel antipaludique : la méfloquine.*
Thèse, Pharm, Dakar, 1982; 113.

45. **DOUMBO O.**
Chimiosensibilité. Evolution de la chimiosensibilité des souches de *Plasmodium falciparum* aux antimalariques utilisés au Mali de 1985 à 1991 ; pp 93-119.
Thèse Doctorat Sciences Biologiques Parasitologie, 1992.
46. **DRUILHE P., MAZIER D., BRANDICOURT O., GENTILINI M.**
One-step *plasmodium falciparum* cultivation. Application on to *in vitro* drug testing.
Trop. med. Parasit. , 1983, **34**, 233 - 234.
47. **DRUILHE P., BRASSEUR Ph., BRANDICOURT O., KOUAMOUO J., RICHARD-LENOBLE D., DIOUF F., GAY F., MOYOU R.S., DANIS M., KOMBILA M.- Y., DIALLO P., GENTILINI M.**
Plasmodium falciparum drug resistance in West Africa.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1986, **66**, 297 - 300.
48. **EDRISSIAN Gh. H.**
Status of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and méfloquine in Iran.
Trop. Geogr. Med., 1989, **41**(4), 297-303.
49. **EKANEM J.O.**
Plasmodium falciparum infection not responding to chloroquine in Nigeria.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. , 1985, **79**, (1), 141 - 142.
50. **FELLER-DANSOKHO E., KI-ZERBO G., BADIANE S.**
Prise en charge diagnostique et thérapeutique de l'accès palustre simple dans la Région de Dakar, Sénégal.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1994, **74**, 291-300.
51. **FISCH A.**
Les stratégies de lutte contre les paludismes.
La lettre de l'Infectiologue, Février 1989, Tome **IV** (3) ,139 - 140.

- 52. FOGH S., JEPSEN S., EFFERSON P.**
Chloroquine - resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Kenya.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1979, **73**, 228 - 229.
- 53. FOURNEL J.**
Dosage fluorométrique de la chloroquine et de certains dérivés de l'amino-4-quinoléine dans les milieux biologiques.
Ann. Pharm. Fr. 1966, **24** (2), 133-142.
- 54. FOWLER V.G. Jr, LEMNGE M., IRARE S.G., MALECELA E., MHINA J., MTUI S., MASHAKA M., MTOI R.**
Efficacy of chloroquine in *Plasmodium falciparum* transmitted at Amani, eastern Usambara Mountains North-east Tanzania : an area where malaria has recently become endemic.
Journ. Trop. Med. Hyg., 1993, **96** (6) , 337-345.
- 55. FRANCISCO SERPA L.A., CHIODINI P.L., HALL A.P., WARHUST D.C.**
In vitro drug sensitivity of *Plasmodium falciparum* malaria from Nigeria.
Trans Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1988 , **82** , 403 - 404.
- 56. GALLIOT M., POMAN J.P., GAY F., DUFLO B.**
Plasmodium falciparum en Guyane et chloroquine.
In AUPELF - UREF Eds. *Maladies Tropicales transmissibles*.
Paris : John Libbey Eurotext , 1989, pp. 33-37.
- 57. GARDNER A.L., WEINSTEIN R.A., LINCOLN L.J.**
Failure of chloroquine prophylaxis in *Plasmodium falciparum* from East Africa.
J. Am. Med. Ass. , 1981, **246** (9), 979 - 980.
- 58. GARIN D., CHAULET J.F., ROBET Y., CHAPLAIN J.C., LAMARQUE D., PEYRON F.**
Paludisme : la résistance à la chloroquine.
Méd. Trop., 1991, **51** (1) , 29-35.

59. GAY F., BINET M.H., BUSTOS M.D.G., ROUVEIX B., DANIS M., ROY C. and GENTILINI M.
Mefloquine failure in child contracting *falciparum* malaria in West Africa.
Lancet, 1990, **335**, 120 - 121.
60. GAY F., DIQUET B., KATLAMA C., FASSIN D., TURK P., DATRY A., DANIS M., GENTILINI M.
Report of chloroquine resistance malaria in Niger (letter).
Therapie, 1991, **46** (1), 90 - 91.
61. GAYE O., BAH I.B., DIALLO S., VICTORIUS A., BENGHA E., FAYE O., Oumar FAYE
Emergence du paludisme chloroquinorésistant à Dakar, Sénégal.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1990, **70**, 33-37.
62. GAYE O., FAYE O., BAH I.B., DIALLO S., DIOUF M., NDIAYE P., NDIAYE A.A., TRAPE J.-F.
Evolution de la chloroquinorésistance en zone urbaine
Résultats d'enquêtes menées à Dakar et Pikine.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1991, **71**, 329-330.
63. GAYE O., BABOU I., FAYE O., FALL A., MOLEZ J.F., BAH I.B., DIALLO S.
Morbidity palustre et efficacité thérapeutique des antipaludéens.
Etude menée dans la Région de Dakar.
Méd. Trop., 1993, **53** (4), 479-485.
64. GBARY A.R., OUEDRAOGO J.B., GUIGUEMDE T.R.
Enquête sur la chimiosensibilité du paludisme et formation d'une équipe nationale aux tests de chimiosensibilité au Niger (Niamey).
Doc. Techn. O C C G E, 9 172/87, 1 - 16.
65. GBARY A.R., OUEDRAOGO J.B., GUIGUEMDE T.R.
Emergence du paludisme chloroquino-résistant en Afrique de l'Ouest : cas de Sokodé (Togo).
Trop. Méd. Parasitol., 1988, **39**, 149-152.

66. **GEARY T. G., JENSEN J. B.**
Lack of cross-resistance to 4-amino-quinoleines in chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* *in vitro*.
J. Parasitol., 1983, **63** (1), 97-105.
67. **GENTILINI M.**
Paludisme. Avant propos - Situation dans le monde.
La Revue du Praticien (Paris), 1988, **38** (18), 1149 - 1150.
68. **GENTILINI M., CAUMES E., DANIS M., et AL.**
Deuxième partie : Maladies parasitaires. 1- Paludisme.
Méd. Trop., Paris : Flammarion, 5è édition., 1993. pp. 91 - 122.
69. **GOLDBERG D.E.**
Hemoglobin degradation in *Plasmodium* infected red blood cells.
Seminars in Cell Biology, 1993, **4**, 355-361.
70. **GRAB B., WERNSDORFER W.II.**
Évaluation des épreuves *in vitro* de pharmacosensibilité de *Plasmodium falciparum* : Analyse par probit de la relation entre dose logarithmique et réponse lors de titrages en 3 - 8 points.
WHO/MAL/83 990, pp 1 - 20.
71. **GUERET D., MIGOT F., RINGWALD P., THIBAUT P., LE BRAS J.**
Stabilité de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine entre 1987 et 1989 à Mounana, Gabon.
Bull. Org. mond. Santé, 1992, **70** (5), 621-624.
72. **GUIGUEMDE T.R., OUEDRAOGO J.B., GBARY A.R.**
Enquête sur la chimiosensibilité du paludisme et formation d'une équipe nationale au Bénin (Cotonou).
Doc. Techn. O C C G E, 9039/87, 1-18.
73. **GUIGUEMDE T.R., GBARY A.R., OUEDRAOGO J.B.**
Enquête sur la chimiosensibilité du paludisme et formation d'une équipe nationale aux tests de chimiosensibilité au Togo (Sokode).
Doc. Tech. O C C G E, 9040/87, 1 - 10.

74. **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.
Pub. Méd. Afr., 1988, n° spécial, 91 bis, 25-32.
75. **HARINASUTA T., SUNTHARASAMAI P., VIRAVAN C.**
 Chloroquine-resistant *falciparum* malaria in Thailand.
Lancet, 1965, **2**, 657-660.
76. **HARINASUTA T., BUNNAG D., WERNSDORFER W.H.**
 A phase II clinical trial of mefloquine in patients with chloroquine-resistant *falciparum* malaria in Thailand.
Bull. Wld Hlth Org., 1983, **61** (2), 299-305.
77. **HATIN I., TRAPE J.- F., LE GROS F., BAUCHET J., LE BRAS J.**
 Susceptibility of *Plasmodium falciparum* strains to mefloquine in an urban area in Senegal.
Bull. Wld Hlth Org., 1992, **70** (3), 363-367.
78. **HATTON C.S.R., PETO T.E.A., BUNCH C. et coll.**
 Frequency of severe neutropenia associated with amodiaquine prophylaxis against malaria.
Lancet, 1986, **i**, 411-414.
79. **KATZUNG B.G., GOLDSMITH R.S.**
 Antiprotozoal Drugs. In : KATZUNG B.G.,
Basic and Clinical Pharmacology. Third Edition. Norwalk : Appleton Lange
 pp. 618-627.
80. **KHALIQ A.A., FOX E., SARWAR M., STRICKLAND G.T.**
 Amodiaquine fails to cure chloroquine - resistant *Plasmodium falciparum* in the Punjab.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1987, **81**, 157 - 159.

81. **KHAN B., OFULLA A.V.O., KARIUKI D.M., GITHURE J.I., KABIRU E.W. and MARTIN S.K.**
Drug sensitivity studies during a highland malaria epidemic in Kenya.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1992, **86** (4) , 371-372.
82. **KILIMALI V.A.E.B., MKUFYA A.R. and KILAMA W.L.**
Low resistance of *Plasmodium falciparum* to mefloquine in Tanga Region Tanzania.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1989, **83** (2), 162-164.
83. **KONE M., PENALI L.K., HOUDIER M., ASSOUMOU A., COULIBALY A.**
Evaluation *in vivo* de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine à Abidjan.
Bull. Soc. Pathol. Ex., 1990, **83** (2), 187-192.
84. **LAMBROS C., NOTSH J.**
Plasmodium falciparum : mefloquine resistance produced *in vitro*.
Bull. Wld Hlth Org. 1984, **62**, 433.
85. **LARREY D., CASTOT A., PESSAYRE D. et coll.**
Amodiaquine induced hepatitis. A report of seven cases.
Ann. Int. Med., 1986, **104**, 801 -803.
86. **LE BRAS J., DELORON P., RICOUR A., ANDRIEU B., SAVEL J., COULAUD J.P.**
Plasmodium falciparum : Drug Sensitivity *in Vitro* of Isolates before and after Adaptation to Continuous Culture.
Experimental Parasitol., 1983, **56** (1), 9-14.
87. **LE BRAS J. and DELORON P.**
In vitro study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum* : An evaluation of a new semi-microtest.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1983, **32** (3) , 447 - 451.

88. LE BRAS J., ANDRIEU B., HATIN I., SAVEL J., COULAUD J.P.
Plasmodium falciparum : interprétation du semi-microtest de sensibilité *in vitro* par incorporation de ^3H - Hypoxanthine.
Pathol. Biol., (Paris), 1984, **32**, (5), 463-466.
89. LE BRAS J. et COULAUD J.P.
Évolution de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* en Afrique entre 1983 et 1985.
Med. et Hyg., 1986, **44**, 618 - 625.
90. LE BRAS J., SIMON F., FOULON G., LAMBERT F.
Le point sur évolution de la chimiosensibilité du paludisme en 1985.
Bull. Ep. Heb. 1986, n° 25, 97 -99.
91. LE BRAS J., SAVEL J.
La détermination de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* :
Méthodologie et interprétation.
Ann. Pédiatr. (Paris), 1987, **34**, (5), 349 - 356.
92. LE BRAS J., RINGWALD P., DOURY J.-C., BEYTOUT J.,
CAMBON M.
Emergence de la chloroquinorésistance du paludisme au Sénégal.
B.E.H. n°4 /89, p 15.
93. LE BRAS J., BASCO L.K.
Chimiorésistance des Plasmodiums. pp 146-167.
in UREF, Ed. Marketing/ Ellipses, 1991.
94. LEFEVRE-ZANTE E.
Chimiorésistances et lutte antipaludique en zone urbaine d'Afrique soudano-sahélienne. Reconnaître le paludisme.
Mémoire, DEA Parasitologie, Montpellier, 1989.

95. **LEGE-OGUNTOYE L., ABUA J.U., WERBLINSKA B., OGALA W.N., SLOTBOOM A.B., OLURINOLA P.F.**
Chloroquine resistance of *Plasmodium falciparum* in semi-immune children in Zaria, northern Nigeria.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1989, **83** (5) , 599 - 601.
96. **LEGE-OGUNTOYE L., ABUA J.U., WERBLINSKA B., OGALA W.N., SLOTBOOM A.B., OLURINOLA P.F.**
Chloroquine - resistant *Plasmodium falciparum* with reduced sensitivity *in vitro* to mefloquine and quinine in Zaria. Northern Nigeria.
J. Trop. Med. Hyg., 1991, **94** (2) , 73 - 75.
97. **LELIJVELD J., and KORTMANN H.**
The eosin colour test of Dill and Glazko : A simple field test to detect chloroquine in urine.
Bull. Wld Hlth Org., 1970. **42** (3), 477 - 479.
98. **LOUIS J.P., LOUIS F.J., TREBUCQ A., MIGLIANI R., COT M., HENGY C.**
Chemoresistance of *Plasmodium falciparum* in central Africa.
Lancet, 1992, **340**, 610-611.
99. **MACAIGNE F., COMBE A., VINCENDEAU P., EBOUMBOU J., GARNIER T., MICHEL R., RIPERT C.**
Sensibilité *in vivo* de *Plasmodium falciparum* à l'amodiaquine dans la ville d'Edea (Cameroun).
Bull. Soc. Path. Ex. , 1989, **82** (2) , 208 - 216.
100. **MENON A., OTOO L.N., HERBAGE E.A., GREENWOOD B.M.A.**
National survey of the prevalence of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria in the Gambia.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1990, **84** (5), 638 - 640.
101. **MINISTERE DE L'ECONOMIE, DES FINANCES ET DU PLAN :**
DIRECTION DE LA PREVISION ET DE LA STATISTIQUE, REP. SENEGAL
Recensement général de la Population et de l'Habitat de 1988.
Rapport Régional (Résultats définitifs). Dakar: Septembre 1992. 56 p.

- 102. MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE ET DE L'ACTION SOCIALE
DIRECTION DE L'HYGIENE ET DE LA SANTE PUBLIQUE
REP. SENEGAL - DIVISION DES STATISTIQUES**
Statistiques sanitaires et démographiques : Années : 1992-1993.
Dakar, Janvier 1995. 139 p.
- 103. MONSON M.H., KYLE D.E., ODÛOLA A.M.J. and BROADBENT P.**
Multiple drug resistance of *Plasmodium falciparum* in Liberia.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1989, **83** (3) , 311-312.
- 104. MOORE D.V., LANIER J.E.**
Observations on two *Plasmodium falciparum* infections with an abnormal response to chloroquine.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1961, **10**, 5-9.
- 105. MUTABINGWA T.K., HILLS E. , KILAMA W.L.**
Response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and to quinine, in hospital patients in Muheza, Tanzania.
WHO/MAL/84. 1012, 1-6.
- 106. NEIVA, A.**
Ueber die Bildung einer chinioresistent Rasse des Malariaparasiten.
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro) , 1910, **2**, 131-140.
- 107. NGUYEN-DINH P. and TRAGER W.**
Plasmodium falciparum in vitro : Determination of chloroquine sensitivity of three new strains by a modified 48-hour test.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1980, **29** (3) ,339-342.
- 108. NGUYEN-DINH P., MAGLOIRE R., CHIN W.**
A simple field kit for the determination of drug susceptibility in *Plasmodium falciparum*.
Am. J. Trop. Med. Hyg. ,1983, **32** (3) , 452-455.

109. NOCHT B., and WERNER H.
Beobachtungen über relative Chininresistenz bei Malaria aus Brasilien.
Deutsche Medizinischer Wochenschrift, 1910, **36**, 1557-1560.
110. NOSTEN F., TER KUILE F., CHONGSUPHAJASIDDHI T.,
LUXAMBURGER C., WEBSTER H.K., EDSTEIN M., PHAIPUN L.,
TEW K.L., WHITE N.J.
Mefloquine-resistant falciparum malaria in the Thai-Burmene Border.
Lancet, 1991, **337** (8750) , 1140 - 1143.
111. ODUOLA A.M.J., MOYOU-SOMO R.S., KYLE D.E., MARTIN S.K.,
GERENA L., and MILIIOUS W.K.
Chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* in indigenous residents of
Cameroon.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1989, **83**, (3), 308-310.
112. OMS
Pharmacorésistance chez les plasmodies pathogènes de l'homme.
OMS S. R.T. n°711 , 1984, 10 - 22.
113. OMS
Mode d'emploi du nécessaire d'épreuve (Microtest) pour l'évaluation de la
réponse de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine et à la méfloquine
in vitro.
OMS, Genève, 1984, MAP/84.2.
114. OMS
Microtest (Mark II) *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.
OMS, Genève, MAP/87.2.
115. O.M.S.
Stratégie mondiale de lutte antipaludique.
OMS-Genève 1994.

- 116. OUEDRAOGO J.B., GUIGUEMDE T.R., GBARY A.R.**
 Enquête sur la chimiosensibilité du paludisme et formation d'une équipe nationale aux tests de chimiosensibilité au Burkina Faso (Ouagadougou).
Doc. Techn. OCCGE, n° 9 173 87.
- 117. OUEDRAOGO J.B., GBARY A.R., GUIGUEMDE T.R.**
 Surveillance de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* en Afrique de l'Ouest. Enquête sur la chimiosensibilité du paludisme et formation d'une équipe nationale aux tests de chimiosensibilité au Mali (Bamako).
Doc. Techn. OCCGE n° 9180 87, p p 1 - 18.
- 118. OUEDRAOGO J.B., GBARY A.R., GUIGUEMDE T.R.**
 Enquête sur la chimiosensibilité du paludisme et formation d'une équipe nationale au Sénégal (Thiès).
Doc. Techn. OCCGE n° 9329 88 p p 1 - 14.
- 119. PALUKU K.M., BREMAN J.G., MOORE M., NGIMBI N.P., SEXTON J.D., ROY J., STEKETEE R.W., WEINMAN, J.M., KALISA-RUTI, MAMBU MA-DISU.**
 Response of children with *Plasmodium falciparum* to chloroquine and development of a national malaria treatment policy in Zaire.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1988, **82**, 353 - 357.
- 120. PAYNE D.**
 Did medicated salt hasten the spread of chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* ?
Parasitology Today, 1988, **4** (4), 112-115.
- 121. PENALI L.K., KONE M., KOMENAN A., COULIBALY L.**
 Baisse du niveau de la chloroquino-résistance de *Plasmodium falciparum* dans la Région d'Abidjan (Côte d'Ivoire).
Méd. Trop., 1993, **53** (2), 191-194.
- 122. PETERS W.**
 The problem of drug resistance in malaria.
Parasitology, 1985, **90**, 705 - 715.

- 123. PRADINES B., ROGIER C., FUSAI T., TALL A., TRAPE J.-F., DOURY J.-C.**
Sensibilité *in vitro* de 85 isolats de *Plasmodium falciparum* dans la Région de Fatick, Sénégal.
Méd. Trop., 1996, **56** (2), 141-145.
- 124. RACCURT 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).
Méd. Trop., 1990, **50** (1), 21-26.
- 125. RAMANAMIRIJA J.A., DELORON P., BIAUD J.M., LE BRAS J. et COULANGES P.**
Sensibilité *in vivo* et *in vitro* aux amino-4-quinoléines de *Plasmodium falciparum* à Madagascar : résultats de deux années d'étude.
Bull. Soc. Path. Ex., 1985, **78**, 606 - 614.
- 126. REACHER M., CAMPBELL C.C., FREEMAN J., DOBERSTYN E.B., BRANDLING-BENNETT A.D.**
Drug therapy for *Plasmodium falciparum* malaria resistant to pyrimethamine-sulfadoxine (Fansidar®). A study of alternate regimens in Eastern Thailand, 1980.
Lancet, 1981, **ii**, 1066-1069.
- 127. RICHARD-LENOBLE D., KOMBILA M., MARTZ M., LEFEVRE B., CHANDENIER J., GAY F., BILLIAULT X., THERIZOL-FERLY M.**
Evolution de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine au Gabon entre 1984 et 1987-88 (Evaluation *in vivo* en milieu scolaire).
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1989, **69**, 113-119.
- 128. RIECKMANN K.H., MC NAMARA J.V., FRISCHER H., STOCKERT T.A., CARSON P. E., POWELL R.D.**
Effects of chloroquine, quinine, and cycloguanil upon the maturation of asexual erythrocytic forms of two strains of *Plasmodium falciparum* *in vitro*.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1968, **17** (5), 661-671.

- 129. RIECKMANN K.H., SAX L.J., CAMPBELL G.H., MREMA J.E.**
Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in vitro* microtechnique.
Lancet, 1978, i, 22-23.
- 130. SALAKO L.A., SOWUNMI A., LAOYE O.J.**
Evaluation of the sensitivity *in vivo* and *in vitro* of *Plasmodium falciparum* malaria to quinine in an area of full sensitivity to chloroquine.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1988, **82** (3), 366-368.
- 131. SALAKO L.A., FADEKE A.A., LAOYE J.O., MODUPE M.J. and AINA A.R.**
Sensitivity of *Plasmodium falciparum* to mefloquine-sulfadoxine-pyrimethamine (Fansimef[®]) *in vivo* and to mefloquine alone *in vitro* in Nigeria.
Ann. Trop. Med. Paras., 1988, **82**, (4), 325-330.
- 132. SARROUY J., BERNARD J., DOURY J.C., GIMENEZ-ESPINOS J.M., MOULINAS J.-M., BUREAU P.**
Premier cas de paludisme à *Plasmodium falciparum* résistant à la chloroquine et de sensibilité diminuée à la méfloquine au retour du Tchad.
B.E.H. n°46/1988, p 187.
- 133. SCHAPIRA A. and SCHWALBACH J. F.L.**
Evaluation of four therapeutic regimens of *falciparum* malaria in Mozambique, 1986
Bull. Wld Hlth Org., 1988, **66** (2), 219-226.
- 134. SCHLESINGER P.H., KROGSTAD D.J., HERWALD B.L.**
Antimalarial Agents : Mechanisms of Action.
Minireviews.
Antimicrobiol. Agents Chemother., 1988, **32** (6) .793-798.

- 135. SCHMIDT L.H., VAUGHAN D., MUELLER D., CROSBY R., HAMILTON R.**
Activity of various 4-amino quinoleines against infections with chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum*.
Antimicrob. Agents Chemother., 1977, **11** (5) , 826-843.
- 136. SCHWARTZ I.K., PAYNE D., CAMPBELL C.C., KHATIB O.J.**
In vivo and *in vitro* assessment of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Zanzibar.
Lancet , i, 1983, 1003-1005.
- 137. SIMON F., VERDIER F., LE BRAS J., CHARMOT G. et COULAUD J.P.**
Quatre cas de paludisme grave à *Plasmodium falciparum* chloroquinorésistant en provenance du Gabon.
B.E.H., 1986, n°6, 23.
- 138. SLATER A.F.G.**
Malaria pigment.
Minireview.
Experimental Parasitology, 1992, **74**, 362-365.
- 139. SMRKOVSKI L.L., BUCK, R.L., ALCANTARA A.K., RODRIGUEZ C.S. UYLANGOO C.V.**
In vitro mefloquine resistant *Plasmodium falciparum* from the Philippines
Lancet , 1982, ii, 322.
- 140. SOWUNMI A., SALAKO L.A., WALKER O., OGUNDAHUNSI O.A.T**
Clinical efficacy of mefloquine in children suffering from chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Nigeria.
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1990, **84** (6) , 761-764.
- 141. SOWUNMI A., ODUOLA A.M.J., SALAKO L.A., OGUNDAHUNSI O.A.T., LAOYE O.J., WALKER O.**
The relationship between the response of *Plasmodium falciparum* malaria to mefloquine in African children and its sensitivity *in vitro*.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1992, **86** (4), 368-371.

- 142. SPENCER H.C., OLOO A.J., WATKINS W.W., SIXSMITH D.G., CHURCHILL F. C., KOECH D. K.**
Amodiaquine more effective than chloroquine against *Plasmodium falciparum* malaria on Kenya coast.
Lancet, 1984, **i**, 956-957.
- 143. STAHEL E., DEGREMONT A., LAGLER U.**
Drug-resistant *falciparum* malaria cases imported from Dar es Salam. United Republic of Tanzania.
WHO/MAL /82. 978, pp 1-3
- 144. THAITHONG S.**
Clones of different sensitivities in drug-resistant isolates of *Plasmodium falciparum* .
Bull. Wld Hlth Org., 1983, **61** (4) , 709-712.
- 145. THAITHONG S., BEALE G.H., CHUTMONGKONGUL M.**
Susceptibility of *Plasmodium falciparum* to five drugs : an *in vitro* study of isolates mainly from Thailand.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. , 1983, **77** (2), 228-231.
- 146. TRAGER W. and JENSEN J.B.**
Human malaria parasites in continuous culture.
Science, 1976, **193**, 673-675.
- 147. TRAPE J.-F., LEGROS F., NDIAYE P., KONATE L., BAH I.B., DIALLO S., VERDIER F., HATIN I. and LE BRAS J.**
Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1989, **83**, 761.
- 148. TRAPE J.-F., LEGROS F., KONATE L., VERDIER F., VASSAL, J.**
A propos d'un cas de paludisme résistant à la chloroquine au Sénégal.
Bull. Soc. Path. Ex. 1990, **83** (5), 669-670.

- 149. TRAPE J.-F., LEFEBVRE-ZANTE E., LEGROS F., DRUILHE P., ROGIER C., BOUGANARI H.**
Malaria morbidity among children exposed to low seasonal transmission in Dakar, Senegal and its implications for malaria control in tropical Africa.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1993, **48** (6), 748-756.
- 150. VERCRUYSSSE J. et JANCLOES M.**
Etude entomologique sur la transmission du paludisme humain dans la zone urbaine de Pikine (Sénégal).
Cahiers ORSTOM, sér. Ent. med. Parasitol., 1981, **19**, 165-178.
- 151. VERCRUYSSSE J., JANCLOES M. et VAN DE VELDEN L.**
Epidemiology of seasonal falciparum malaria in an urban area of Senegal.
Bull. Wld Hlth Org., 1983, **61**, 821-831.
- 152. VERDIER F., LE BRAS J., CLAVIER F., HATIN I., BLAYO M. C.**
Chloroquine uptake by *Plasmodium falciparum* infected human erythrocytes during *in vitro* culture and its relationship to chloroquine resistance.
Antimicrob. Agent Chemother., 1985, **27**, 561-564.
- 153. WALKER O., SALAKO L.A., PATIENCE O., OBIH P.O., BADEMOSI K., SODEINDE O.**
The sensitivity of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and amodiaquine in Ibadan, Nigeria.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1984, **78** (6), 782-784.
- 154. WALKER O., DAWODU A.H., ADEYOKUNNU A.A., SALAKO L.A., ALVAN G., JOHNSON A.O.K.**
Single dose disposition of chloroquine in Kwashiorkor and normal children. Evidence for decreased absorption in Kwashiorkor.
Br. J. Clin. Pharmacol., 1987, **23**, 467-472.
- 155. WALLIKER D.**
Genetic variation in malaria parasites.
Br Med. Bull., 1982, **38** (2), 123-128.

- 156. WALLIKER D.**
Malaria Parasites : Randomly Interbreeding or "Clonal" Populations ?
Parasitology Today, 1991, **7**(9), 232-235.
- 157. WATKINS W.M., SIXSMITH D.G., BORIGA D.A.,
KARIUKI D.M., SPENCER H.C., KIPINGOR T., KOECH D.K.**
Amodiaquine as an effective treatment for chloroquine-resistant
Plasmodium falciparum infections in Kenya.
Lancet , 1984, **i**, 357-359.
- 158. WATT G., LONG G.W., PADRE L., ALBAN P., SANGALANG R.,
RANO C.P., LAUGHLIN L.W.**
Amodiaquine less effective than chloroquine in the treatment of *falciparum*
malaria in the Philippines.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1987, **36** (1) , 3-8.
- 159. WEBSTER H.K., BOUDREAU E.F., PAVANAND K.,
YONGVANITCHIT K., PANG L.W.**
Antimalarial drug susceptibility testing of *Plasmodium falciparum* in
Thailand using a microdilution radioisotope method.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1985, **34** (2) , 228-235.
- 160. WERNSDORFER W.H.**
Field evaluation of drug resistance in malaria. *In vitro* micro-test.
Acta Tropica, 1980, **37**, 222-227.
- 161. WERNSDORFER W.H., KOUZNETSOV R.L.**
Paludisme pharmacorésistant - Apparition, lutte et surveillance.
Bull. Org. mond. Santé 1980, **58** (4), 559-571.
- 162. WERNSDORFER W.H.**
The development and spread of Drug -resistant Malaria.
Parasitology Today, 1991, **7** (11), 297-303.

163. WHITE N.J., COOAKESUWAN S., WARRELL D.A.,
WARRELL M.J., BUNNAG D., HARINASUTA T.
Quinine pharmacokinetics and toxicity in cerebral and uncomplicated
falciparum malaria.
Am. J. Med., 1982, **73**, 564-571.
164. WINSTANLEY P.A., EDWARDS G., L'EORME M.,
BRECKERNRIDGE A.M.
Effect of dose size on amodiaquine pharmacokinetics after oral
administration.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 1987, **33** (217), 331-333.
165. WHO
Chemotherapy of malaria and resistance to antimalarials.
Report of a WHO Scientific Group.
WHO Techn. Rep. Ser. n° 529, 1973, Genève, WHO.
166. WHO
Instructions for the use of WHO Test kit for the assessment of the response
of *Plasmodium falciparum* to chloroquine.
WHO Document MAP 179,1 (1979).
167. WIRIMA J.J., KHORMANA C.O., MACHESO A.F.,
HEYMANN D.L., CAMPBELL C.C.
In vivo efficacy of quinine treatment for *Plasmodium falciparum* malaria
in Malawian children.
Ann. Trop. Med. Parasitol., 1990, **84** (3), 223 - 227.

VU

LE PRESIDENT DU JURY

VU

LE DOYEN

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER
LE RECTEUR DE L'UNIVERSITE
CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR**