

LE PALUDISME DANS UN VILLAGE DES HAUTS PLATEAUX MALGACHES EN 1987

Etat actuel de la sensibilité de *Plasmodium falciparum*
à la Chloroquine. Etude *in vitro*.
Quelques données épidémiologiques

par

J.P. LEPEERS, J.A. RAMANAMIRIJA, M.D. ANDRIAMANGATIANA RASON
P. COULANGES

RESUME

Du mois de Mars au mois d'Août 1987, les auteurs ont étudié la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine dans un village situé à proximité de Tananarive.

A cette occasion ils ont pu constater l'existence de faits épidémiologiques nouveaux dans cette région, et, en particulier une dérive probable vers un paludisme plus stable que celui existant sur les Hauts Plateaux jusqu'à ces dernières années. Ces données demandent bien sûr à être complétées par des études entomologiques.

L'étude de la sensibilité de 141 souches de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine n'a pas montré d'évolution ni d'aggravation du phénomène de résistance. En effet, seules 5,7 p. 100 des souches ont une C.I.50 supérieure à 120 nanomoles/litre. Le niveau de résistance maximum est toujours inférieur à 200 nanomoles/litre donc bien loin de celui observé en Afrique à l'heure actuelle.

INTRODUCTION

La résistance de *Plasmodium falciparum* aux divers antimalariques en général et à la chloroquine en particulier est actuellement le problème majeur de la lutte contre le paludisme dans le monde.

Depuis 1960, date de l'apparition de la résistance dans le Sud-Est Asiatique et en Amérique Latine, le phénomène s'est étendu à l'Afrique de l'Est, puis à l'Afrique Centrale pour gagner enfin l'Afrique de l'Ouest.

Madagascar n'est pas épargné puisqu'en 1975 sont décrits les deux premiers cas de résistance clinique à la chloroquine. Le phénomène reste clinique et il faut attendre 1982 pour voir débiter l'étude de la sensibilité de *Plasmodium falciparum*, *in vivo* et *in vitro*, en divers points de Madagascar.

Les années suivantes ont vu se développer la technique du semimicrotest dans sa version isotopique. Cette méthode est actuellement utilisée régulièrement à l'Institut Pasteur de Madagascar. Les études effectuées, sur la Côte Est, sur la Côte

Ouest ou sur les Hauts Plateaux ont toujours montré l'existence de souches résistantes à la chloroquine mais toujours ces souches sont peu nombreuses et surtout le niveau de résistance reste bas, nettement inférieur à celui observé actuellement en Afrique de l'Ouest.

En Mai puis en Juillet et Août 1987, l'équipe du Laboratoire du Paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar a une nouvelle fois effectué une série de tests sur les Hauts Plateaux, à proximité immédiate de Tananarive.

1. MATERIEL ET METHODE

a) SUR LE TERRAIN

Pendant les mois de Mars, de Mai, de Juillet et d'Août 1987, le Laboratoire du Paludisme a effectué des missions répétées à MANARINTSOA.

Il s'agit d'un petit village situé à environ 25 km au Sud-Ouest de Tananarive, à environ 1200 m d'altitude dans le Firaisana d'AMBATOMIRAHAVAVY, Fivondronana d'ANTANANARIVO ANTSIMONDRANO. Il bénéficie du climat tropical d'altitude avec une saison sèche et fraîche de Juillet à Octobre et une saison humide et chaude de Décembre à Avril.

La population explorée est estimée à 2000 habitants qui sont essentiellement des cultivateurs. La riziculture par inondation est l'activité dominante.

En Mars a eu lieu une enquête avec dépistage actif au niveau des écoles. Elle a porté sur 540 individus dont 159 enfants de 2 à 9 ans. Elle nous a permis de situer Manarintsoa au plan épidémiologique pendant cette période de l'année où les Hauts Plateaux sont considérés actuellement comme «zone épidémique».

En Mai puis en Juillet et Août, le dépistage a été passif et a porté sur 933 individus. Seuls les consultants se présentant volontairement ont été retenus.

Le tableau 1 résume la répartition selon les tranches d'âge.

Tous ont subi :

★ Un examen clinique avec :

- Prise de la température axillaire
- Recherche d'une splénomégalie
- Pesée.

★ Un examen biologique comportant :

Un frottis sur lame, coloré par une méthode rapide (DIFF QUICK) et examiné immédiatement au microscope optique. La parasitémie a été établie par observation de 10000 hématies.

Pour 97 paludéens, il a été pratiqué un hémocrite et une recherche d' amino 4 quinoléines dans les urines par la méthode de BERQUIST.

Chez 139 malades présentant une parasitémie supérieure à 1000 hématozoaires par microlitre, un prélèvement de sang sur anticoagulant (A.C.D) a été pratiqué. Conservé en glacière, il a été amené le jour même au Laboratoire de l'Institut Pasteur pour étude de la sensibilité à la chloroquine de la souche ainsi isolée.

Le diagnostic établi, tous les malades ont été traités par une Amino 4 quinoléine (chloroquine, amodiaquine ou amopyroquine) ou par la quinine injectable.

Les moyens logistiques pour cette étude sur le terrain ont comporté entre autres un véhicule tout terrain, un groupe électrogène, un microscope électrique et une mini centrifugeuse à hématocrite électrique.

b) AU LABORATOIRE

L'étude de la sensibilité des diverses souches isolées s'est faite selon la technique maintenant bien connue et bien codifiée du Semi Microtest de LE BRAS et DELORON dans sa version isotopique.

Sans revenir sur le déroulement opératoire, il convient de souligner l'intérêt de cette méthode de troisième génération pour sa fiabilité et sa reproductibilité.

Au mois de Mai, le Laboratoire du Paludisme a enregistré 50 p. 100 d'échecs dans la mise en route du Semi Microtest, alors que pendant la période de Juillet-Août le taux d'échecs a été inférieur à 10 p. 100, ce qui prouve l'excellente maîtrise acquise en quelques mois ainsi que la relative facilité de ce transfert technique.

Pour chaque souche a été déterminée la Concentration Inhibitrice pour 50 p. 100 et pour 90 p. 100 des parasites (C.I.50 et C.I.90).

Les moyens logistiques du laboratoire bénéficient d'une hotte à flux laminaire, d'une étuve à CO₂, d'un collecteur de cellule TITERTEK et d'un compteur à scintillation BETAMATIC de KONTRON. Les plaques d'étude des chimiosensibilités avec des doses croissantes d'antipaludéens ont été préparées par l'Institut de Médecine et d'Epidémiologie Tropicale (Hôpital Claude Bernard, Paris).

2. RESULTATS

L'étude de ceux-ci comprend deux volets: l'un concerne les données épidémiologiques générales, l'autre les résultats de l'étude des sensibilités.

a) Données générales

1. LES HEMATOCRITES

La moyenne générale des hématocrites est de 34,2 p. 100. Dans le sexe masculin (46 hommes), la moyenne est de 35,5 p. 100. Dans le sexe féminin (51 femmes), elle est comme d'habitude un peu plus faible: 33 p. 100.

2. LES INDEX SPLENIQUES selon les périodes et les tranches d'âges sont résumés dans le tableau 2.

3. LES INDEX PARASITAIRES établis selon les mêmes critères sont fournis par le tableau 3.

4. LA FORMULE PARASITAIRE est intéressante globalement mais surtout par son évolution dans le temps. Elle est résumée dans le tableau 4.

5. LE TEST DE BERQUIS T pratiqué sur 97 sujets paludéens est positif chez 23 malades, soit 24 p. 100 de la population examinée.

b) L'étude de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine est résumée dans le graphique 5. Le détail de ces C.I.50 et C.I.90 des diverses souches explorées paraîtra dans les «Rapports de l'I.P.M. 1987».

Sur 139 souches étudiées, 8 présentent une C.I.50 supérieure à 120 nanomoles/litre mais ne dépassant pas 200 nanomoles/litre soit 5,7 p. 100 des souches.

6 ont une valeur de C.I.50 comprise entre 90 et 100 nanomoles/litre soit 4,25 p. 100.

Au total, 14 souches ont une sensibilité à la chloroquine diminuée et elles représentent 10 p. 100 des souches étudiées dans cette région.

La moyenne des sensibilités observées est de 44 nanomoles/litre.

3. COMMENTAIRES

1. L'observation des hématocrites dans la population paludéenne montre que ceux-ci sont nettement inférieurs à ceux qui sont observés dans une population normale. Sans réellement définir l'anémie, l'hématocrite en est le reflet fidèle.

En dehors de la destruction des hématies due à l'hémolyse parasitaire, la cause principale d'anémie dans ce type de population est vraisemblablement la carence protidique et la carence en fer comme en témoigne la fréquence des hématies cibles observées sur les frottis.

2. La recherche de la chloroquine dans les urines a été une surprise quant aux résultats. Cette mise en évidence a permis un interrogatoire plus poussé. Il est fréquent que les malades prennent de la chloroquine mais toujours à des doses nettement insuffisantes. Par ailleurs, la prise d'autres antimalariques est probable mais ne peut être dépistée par la méthode de terrain utilisée.

3. Les Index spléniques et parasitaires établis aux différents temps de ce travail ne sont malheureusement pas comparables entre eux. En effet, ceux établis en Mars le sont au cours d'un dépistage actif. Les autres au cours d'un dépistage passif.

Ils reflètent cependant de façon étonnante l'intensité de la réaction immunitaire face à l'intensité de l'infestation parasitaire.

Les résultats du mois de Mars permettraient selon les classifications de KAMPALA (1950) de METSELAAR et VAN THIEL (1958) ou de YAOUNDE (1962), de situer MANARINTSOA dans une zone HYPERENDEMIQUE au moment de cette étude sans préjuger de ce qui se passe à d'autres périodes de l'année.

Il s'agit en effet d'une région où le paludisme était officiellement considéré comme éradiqué depuis de nombreuses années et où pour ce que l'on en sait, la circulation du parasite était nulle ou très faible jusqu'à ces dernières années.

4. L'évolution de la formule parasitaire (tableau IV) de la saison chaude à la saison froide présente le plus grand intérêt. *Plasmodium ovale* s'est installé sur les Hauts Plateaux et en particulier dans cette région.

Son augmentation pendant les mois les plus frais se fait aux dépens de *Plasmodium falciparum* sans que l'on observe une disparition de celui-ci. Un sondage récent effectué le 22 Septembre 1987 et portant sur 29 consultants de Manarintsoa, bien que non significatif, donne une idée de l'évolution nouvelle de l'endémie palustre sur les Hauts Plateaux. L'Index Parasitaire est de 52 p. 100 et l'Index Splénique de 35 p. 100. La formule parasitaire n'a pas varié depuis le mois d'Août:

Plasmodium falciparum : 64 p. 100
Plasmodium ovale, Plasmodium vivax : 36 p. 100

Il semble bien que la transmission devienne permanente et que le paludisme instable observé jusqu'à présent évolue vers une certaine stabilité. Ces faits sont bien sûr à confirmer par des travaux répétés et surtout la mise en route d'enquêtes entomologiques.

Soulignons également ici que les Index Parasitaires observés dans cette étude sont sans doute inférieurs à la réalité. En effet, les lames n'ont subi qu'une lecture sur le terrain, seuls des frottis ont été examinés et la parasitémie n'a été établie que sur 10000 hématies. Il est certain que des parasitémies inférieures à 500 éléments par microlitre nous ont échappé.

5. L'étude *in vitro* de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine est à divers titres plus que rassurante :

La proportion des souches résistantes est faible et ne semble pas vouloir varier depuis 1982, c'est-à-dire depuis l'adoption du semi microtest pour explorer systématiquement la sensibilité *in vitro* en divers points de Madagascar.

Le niveau de résistance reste également très faible, au-dessous de 200 nanomoles par litre. Il est largement inférieur à celui trouvé en Afrique de l'Ouest à l'heure actuelle où il dépasse régulièrement 400 nanomoles par litre. Les chiffres trouvés au Laboratoire du Paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar correspondent parfaitement aux résultats de l'Institut de Médecine et d'Epidémiologie Tropicale sur les souches isolées en France des malades en provenance de Madagascar.

Le chiffre des moyennes des sensibilités est lui-aussi peu différent de ceux trouvés en diverses régions de Madagascar depuis 1984, date de la mise en route du semi microtest dans sa version isotopique.

Ces résultats prouvent, s'il en est besoin, que la chloroquine à dose suffisante reste encore l'antimalarique le mieux adapté pour lutter contre le Paludisme Maladie à Madagascar.

CONCLUSION

L'étude menée de Mars à Août 1987 en une région des Hauts Plateaux très proche de Tananarive apporte des données épidémiologiques nouvelles sur l'extension du Paludisme dans cette zone.

Le faible niveau de résistance observé pour certaines souches ne varie guère depuis plusieurs années. Le rôle de la diminution de la pression médicamenteuse est certainement important dans cette évolution favorable malgré la constatation d'une prise non contrôlée de chloroquine à des doses toujours insuffisantes.

Les résultats épidémiologiques devront de toutes façons être complétés et étayés par d'autres enquêtes, entomologiques en particulier.

Ce travail a bénéficié d'une aide de la Tropical Pathology Society.

TABLEAU I

Population examinée — Manarintsoa
Mars à Août 1987

	POP TOTALE	ENFANTS 0 à 23 mois	ENFANTS 2 à 9 ans	ENFANTS 10 à 14 ans	ADULTES
MARS (D.A.)	540	26	159	129	226
MAI (D.P.)	430	17	110	102	201
JUILLET (D.P.)	503	38	101	81	283
TOTAL	1473	81	370	312	710

D.A. : Dépistage actif — D.P. : Dépistage passif

POP : Population

TABLEAU II

Index spléniques Manarintsoa 1987

	0 à 23 m.		2 à 9 ans		10 à 14 ans		Adultes		TOTAL	
	+	I.S.	+	I.S.	+	I.S.	+	I.S.	+	I.S.
MARS	16	62%	92	58%	65	50%	41	18%	214	40%
MAI	11	65%	90	82%	63	62%	49	24%	213	50%
JUILLET AOÛT	21	55%	81	80%	51	63%	67	24%	220	44%
TOTAL	48	59%	263	71%	179	57%	157	22%	647	44%

+ : Positifs I.S. : Index Spléniques m : mois

TABLEAU III

Index parasitaires Manarintsoa 1987

	0 à 23 m.		2 à 9 ans		10 à 14 ans		Adultes		TOTAL	
	+	I.P.	+	I.P.	+	I.P.	+	I.P.	+	I.P.
MARS	15	58%	96	60%	75	58%	172	76%	358	66%
MAI	12	71%	93	86%	81	79%	159	79%	345	80%
JUILLET AOUT	11	29%	64	63%	54	67%	163	58%	292	58%
TOTAL	38	47%	253	68%	210	67%	494	70%	995	68%

+ : Positifs I.P. : Index parasitaires m. : mois

TABLEAU IV

Formules parasitaires à Manarintsoa 1987

	MARS		MAI		JUIL-AOUT		TOTAL	
	Nbre	F.P.	Nbre	F.P.	Nbre	F.P.	Nbre	F.P.
P. falciparum	340	90%	328	92%	232	70%	900	84,5%
P. ovale	8	2%	2	0,5%	6	2%	16	1,5%
P. vivax	29	8%	27	7,5%	93	28%	149	14%
TOTAL	377		357		331		1065	

Nbre : Nombre F.P. : Formules parasitaires JUIL : Juillet

- SARROUY, T.R. GUIGENDE, B. CARME, G. CHARMOT, J.P. COULAUD, P. COULANGES: Sensibilité de *Plasmodium falciparum* aux quinoléines et stratégies thérapeutiques: comparaison de la situation en Afrique et à Madagascar entre 1983 et 1986. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1987, **80**, 477-489.
15. J.P. LEPERS, J.A. RAMANAMIRIJA, M.D. ANDRIAMANGATIANA-RASON, P. COULANGES: Données récentes sur l'épidémiologie du paludisme et sur la répartition des espèces plasmodiales à Madagascar. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1987, **54**, 1.
16. J.P. LEPERS, M.D. ANDRIAMANGATIANA-RASON, J.A. RAMANAMIRIJA, P. COULANGES: Etude des sérologies antipalustres positives en immunofluorescence indirecte dans deux populations d'enfants de la région de Tananarive. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1987, **54**, 1.
17. H. MARCHAIS, J.A. RAMANAMIRIJA, J. LE BRAS, P. COULANGES: Sensibilité *in vivo* et *in vitro* aux amino 4 quinoléines de *Plasmodium falciparum* à Madagascar: Résultat d'une étude effectuée sur la Côte Est (Juillet 1985 - Juillet 1986), *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1987, **53**, 1.
18. G. ORLONDO, C. INZOLI, G. CALELLO, M. GALLI, A. LAZZARIA, R. ESPOSITO: Decreased chloroquine sensitivity of *Plasmodium falciparum* in two Italian travellers from Madagascar, *Trans. Royal Society of Trop. Med. and Hyg.* (1984), **78**, 279-280.
19. J.A. RAMANAMIRIJA, P. DELORON, J.M. BIAUD, J. LE BRAS, P. COULANGES: Sensibilité *in vivo* et *in vitro* aux amino 4 quinoléines de *Plasmodium falciparum* à Madagascar: Résultats de deux années d'étude., *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 1985, **78**, 606-614.
20. J.F. ROSSIGNOL, H. MAISONNEUVE: Chimiorésistance au paludisme, *La Presse Médicale*, 25/01/86n **15**, 3, 97-99.
21. J.J. PICQ: Epidémiologie du Paludisme. Première endémie mondiale. Quelques notes, *Médecine Tropicale*, 1982, **42**, 4.

GRAPHIQUE IV

