

Sensibilité de *Plasmodium falciparum* dans l'île de Sainte Marie, côte Est de Madagascar : études *in vivo* et *in vitro*

Raharimalala AL¹, Randrianarivojosia M¹, Randriamanantena A¹, Ranarivelo LA², Jaureguiberry S³, Rason MA¹, Rakotomalala E¹, Arieu F¹

RESUME : Dans le cadre de la surveillance de l'évolution de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine à Madagascar, une étude couplée *in vivo/in vitro* a été réalisée à Sainte Marie, île située à 6 km de la côte Est du pays. Des malades suspects de paludisme et répondant aux critères d'inclusion ont été recrutés dans deux dispensaires de cette île. Le protocole sur 14 jours de l'Organisation Mondiale de la Santé a été appliqué. Tous les sujets ont reçu la dose recommandée de chloroquine (25mg base/kg en 3 jours) en administration supervisée. La parasitémie et les symptômes ont été suivis pendant 14 jours. Les résultats *in vivo* portent sur 62 patients suivis jusqu'à J14. 80,6% d'entre eux ont répondu favorablement au traitement appliqué. Les échecs thérapeutiques précoces et tardifs sont respectivement au nombre de 3 (4,9%) et 9 (14,5%). Le traitement des échecs à la chloroquine par la sulfadoxine-pyriméthamine a été efficace. La chloroquine reste néanmoins effective dans le traitement des accès simples à *P. falciparum* en première intention. De même, la préconisation de la sulfadoxine-pyriméthamine en seconde ligne reste d'actualité. *In vitro*, 4 résistances à la chloroquine (14,8%) sur 27 isolats et 1 résistance à la méfloquine (4%) sur 25 isolats de ces patients ont été enregistrées. Aucune résistance à la quinine ni à l'amodiaquine n'a été observée. Ainsi, la quinine, l'amodiaquine ou la méfloquine peuvent relayer la chloroquine en cas de contre-indication. Néanmoins, le taux des échecs thérapeutiques à la chloroquine rapporté dans cette étude souligne la nécessité et l'importance d'une évaluation de l'efficacité des antipaludiques, afin de pouvoir développer une politique nationale rationnelle dans la lutte contre le paludisme. Mots-clés : Paludisme - *Plasmodium falciparum* - Antipaludique - Chloroquine - [Sulfadoxine-Pyriméthamine] - Résistance microbienne aux médicaments - MADAGASCAR.

ABSTRACT : "Chemosusceptibility of *Plasmodium falciparum* in Sainte Marie island, east coast of Madagascar : *in vivo* and *in vitro* study" : In order to document the evolution of the chemoresistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine in Madagascar, a study was carried out in Sainte-Marie island located at 6 km on the eastern border of the country. Symptomatic malaria patients who satisfied criteria for resistance testing, were recruited by a process of passive case detection at two clinics. These patients were enrolled in a sensitivity 14-day *in vivo* test for uncomplicated *P. falciparum* malaria attacks. All subjects received a supervised therapeutic regimen of chloroquine (25 mg base/kg over 3 days). Parasitemia and symptoms were monitored for 14 days. 62 (93,9%) out of the 66 enrolled patients completed the 14-day follow-up. A total of 50 of 62 patients (80,6%) presented an adequate clinical response. Early and late treatment failures were observed in 3 (4,8%) and 9 (14,5%) patients respectively. Failure therapeutic treatments treated with sulfadoxine-pyrimethamine were successful. Chloroquine remains effective in the treatment of malaria due to *P. falciparum* and therefore its choice as a first line drug remains justified. Likewise, guidelines for the use of sulfadoxine-pyrimethamine as second line drug are adequate.

In vitro, 4 resistances out of 27 successful tests to chloroquine (14,8%) and 1 resistance out of 25 successful tests to mefloquine (4%) were recorded. No resistance to quinine nor to amodiaquine were noticed. Alternative antimalarial drugs such as quinine, amodiaquine or mefloquine can be used in patients for whom the treatment with chloroquine is not possible. Nevertheless, the level of therapeutic failures to chloroquine detected in this study highlights the need and importance of drug sensitivity test for the development of a rational national antimalarial drug policy.

Key-words : Malaria - *Plasmodium falciparum* - Antimalarials - Chloroquine - [Sulfadoxine-Pyrimethamine] - Drug resistance, Antimicrobial - MADAGASCAR.

¹ Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274, 101 Antananarivo - Madagascar

² Responsable du paludisme grave, Coopération Italienne, Service de Lutte contre le Paludisme, Institut d'Hygiène Sociale, BP 460 - Antananarivo - Madagascar

³ Coopération Française, Projet d'Appui aux Districts Sanitaires de la province de Toamasina, Direction Inter-Régionale du Développement Sanitaire de Toamasina - Madagascar

INTRODUCTION

La résistance de *Plasmodium falciparum* aux antimalariques, notamment à la chloroquine, représente une des grandes difficultés rencontrées dans la lutte contre le paludisme. Apparue dans le Sud-Est asiatique et en Amérique Latine en 1960, elle a intéressé par la suite l'Afrique de l'Est, puis l'Afrique Centrale et l'Afrique de l'Ouest. A Madagascar, les premiers cas de résistance à cet antipaludique furent suspectés en 1975 [1] et confirmés en 1981 [2]. A partir de 1982, une surveillance de l'évolution de cette résistance a été entreprise. Quelques études ont été menées [3] et depuis la mise en évidence d'une aggravation de la situation en 1988 [4], cette surveillance est devenue plus intense et a tenté de couvrir toute l'île [5,6]. De février à avril 2000, dans le cadre de la surveillance de l'évolution de cette résistance et en collaboration avec le Ministère de la Santé, une étude couplée *in vivo/in vitro* a été menée dans l'île de Sainte-Marie. L'île de Sainte Marie a été choisie pour 2 raisons. D'une part, il s'agit d'un lieu touristique où règne une certaine pression médicamenteuse *a priori* susceptible de favoriser la sélection de souches résistantes. D'autre part, une étude du même genre y a été déjà menée [6]. Le choix des dispensaires a été basé sur les statistiques des cas présumés de paludisme de l'année précédente. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer l'efficacité de la chloroquine dans le traitement des accès palustres simples selon les 2 techniques énumérées précédemment.

MATERIEL ET METHODES

Sainte Marie est située à 6 km de la Côte Est de Madagascar. Elle s'étire le long de cette côte sur environ 50 km de long et sur une largeur de 5-6 Km. Elle jouit d'un climat tropical chaud et humide : la température moyenne au cours de l'année dépasse 20° C et les précipitations sont supérieures à 2 500 mm par an. Le faciès épidémiologique du paludisme y est de type équatorial avec une transmission pérenne, un paludisme stable avec comme principaux vecteurs *Anopheles gambiae ss* et *Anopheles funestus* [7].

Le recrutement des malades a été effectué dans 2 dispensaires de la ville : le Centre de Santé de Base niveau II (CSB II) d'Ambodifotatra situé au sein même de l'hôpital; les consultants concernent toutes les tranches d'âge et proviennent des zones urbaines et péri-urbaines, et le CSB II de Vohilava, 2^{ème} dispensaire le plus fréquenté de la ville, situé en zone rurale à une dizaine de km de la ville; les consultants proviennent des zones périphériques et sont de tous les âges. Mais par défaut de malades, l'étude a été centrée au CSB II d'Ambodifotatra.

Pour l'étude *in vivo* qui s'est déroulée de février à avril 2000, les sujets ont été recrutés parmi les consultants présentant une suspicion clinique de paludisme après confirmation diagnostique sur lame. Le protocole standard sur 14 jours de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a été appliqué [8]. Il consiste en l'administration sous surveillance de 25 mg/kg de chloroquine base en 3 jours (à J0, J1 et J2) et au suivi du malade pendant deux semaines (J0, J1, J2, J3, J7 et J14).

Les critères d'inclusion des patients ont été : une température axillaire >37,5° C, une infection monospécifique à *P. falciparum* associée à une parasitémie \geq 1500 trophozoïtes par microlitre de sang (tpm), la possibilité raisonnable d'achever le suivi, et l'accord du patient adulte ou des parents s'il s'agit d'un enfant.

Les critères d'exclusion ont été : des signes de danger ou un paludisme grave (critères OMS), une maladie fébrile concomitante, une malnutrition sévère, et un séjour de plus d'une nuit hors de la zone étudiée.

En cours d'enrôlement, tout patient accusant une fièvre associée à une parasitémie positive sans autre cause décelable a été recruté. Chaque patient a fait l'objet d'un prélèvement capillaire pour la confection de lames (frottis et goutte épaisse). Les lames ont été colorées au Giemsa dilué au 1/10^{ème}. Les parasitémies ont été calculées après lecture de 100 champs de 200 hématies pour le frottis (à J0) et 1000 leucocytes pour la goutte épaisse (les autres jours), puis rapportées au microlitre de sang, en utilisant les normes de l'OMS en Afrique (8 000 leucocytes et 3 500 000 hématies par microlitre).

Pour le traitement, selon les recommandations du Programme National de Lutte contre le Paludisme [9], l'association sulfadoxine-pyriméthamine, à la dose unique de 1 comprimé par 20 kg de poids, a été administrée en cas d'apparition de signes de danger ou en cas d'échec thérapeutique. Cet antipaludique a également servi à traiter les enfants retrouvés positifs à J14 (raisons d'éthique).

La classification retenue a été celle de l'OMS (OMS 1994 modifié en 1996) [10] : i) il y a Réponse Clinique Adéquate ou RCA devant l'absence de parasitémie à J14 quelle que soit la température sans répondre aux critères d'Echec Thérapeutique Précoce (ETP) ou d'Echec Thérapeutique Tardif (ETT); une température axillaire < 37,5° C, avec ou sans parasitémie, sans répondre aux critères d'ETP ou d'ETT; ii) ETP lorsque des signes de danger ou d'un paludisme grave apparaissent à J1, J2 ou J3, associée à une goutte épaisse positive; la fièvre persiste à J2 avec une parasitémie supérieure à celle de J0; une fièvre existe à J3 associée à une goutte épaisse positive; la parasitémie à J3 est supérieure ou égale à 25% de celle de J0; iii) ETT s'il y a apparition de signes de danger ou d'un

paludisme grave entre J4 et J14 sans répondre aux critères d'ETP; la température axillaire est supérieure à 37,5° C en présence d'une parasitémie n'importe quel jour entre J4 et J14 sans répondre aux critères d'ETP.

Pour l'étude *in vitro*, des isolats de *P. falciparum* prélevés chez des malades ayant une charge parasitaire > 2000 tpm et acheminés en moins de 48 heures au Laboratoire du Paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar en chaîne de froid continue (+ 4° C) ont été testés. L'évaluation de l'activité antiplasmodiale a été conduite selon la technique du microtest isotopique [11,12].

Brièvement décrite, cette technique consiste à centrifuger le sang prélevé (1800 t/mn, 10 mn), à éliminer le surnageant et à laver le culot de globules rouges parasités 3 fois en RPMI 1640 (Gibco). Puis, les tests sont effectués dans des microplaques de culture de 96 puits à fond plat et en duplicate ou triplicate. Une suspension d'hématies parasitées (200 µl, hématocrite 2,5%) est distribuée dans chaque puits. La dilution est faite dans du RPMI 1 640 supplémenté en bicarbonate (25 mM), en Hépès (25 mM) et en sérum humain décomplémenté AB⁺ (10%, v/v). La parasitémie initiale est de 2 000 à 25 000 tpm. Une dilution avec des globules rouges non infestés O⁺ est réalisée pour les charges parasitaires élevées. De l'hypoxanthine tritiée est ajoutée (1 µCi par puits) pour évaluer le taux de croissance des parasites. Les plaques sont incubées à 37° C dans une atmosphère microaérophile (cloche à bougie) pendant 42 heures puis congelées. Après décongélation, le contenu des puits est collecté sur filtre en fibre de verre. Après séchage à 50° C pendant une heure, le filtre est imbibé avec 2 ml de liquide scintillant (Amersham Corporation USA) et la radioactivité mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation (Wallac microBéta). Les résultats n'ont pas été inclus dans l'analyse des données quand la radioactivité des puits témoins (sans médicament) a été inférieure à 1000 coups par minute (cpm). La réponse des isolats aux antipaludiques est évaluée en fonction des valeurs de la CI50 ou concentration inhibitrice de 50% des parasites et de CI90 (de 90% des parasites) calculées à partir de la courbe effet-concentration, transformée en une droite de régression du probit du pourcentage d'inhibition en fonction du log des concentrations.

Les analyses statistiques ont été faites sur le logiciel Statistica. Le test de rang de Spearman est utilisé pour montrer la corrélation entre les activités des différents antipaludiques.

Les molécules évaluées ont été : **i**) : la chloroquine (Sigma) : testée à des concentrations de 12,5 à 1 600 nM. La poudre de chloroquine (sulfate) a été solubilisée dans du méthanol/eau

(50 : 50) et les dilutions faites avec de l'eau distillée; la valeur de la CI50 déterminant le seuil de résistance des isolats était fixée à 110 nM [13]; **ii**) : l'amodiaquine (Parke Davis) : testée à des concentrations de 2,5 à 1 280 nM. La poudre d'amodiaquine base a été solubilisée dans du méthanol et les dilutions faites avec de l'eau distillée; la valeur de la CI50 déterminant le seuil de résistance des isolats était fixée à 80 nM [14,15]; **iii**) : la quinine (Sigma) : les concentrations testées allaient de 25 à 3 200 nM. La poudre de quinine base a été solubilisée dans du méthanol; la valeur de la CI50 déterminant le seuil de résistance était fixée à 800 nM [16]; **iv**) : la méfloquine (Roche) : les concentrations testées variaient de 2,5 à 1 280 nM. La poudre de méfloquine base a été solubilisée dans du méthanol; la valeur de la CI50 déterminant le seuil de résistance des isolats était fixée à 50 nM [12].

RESULTATS

Pour l'étude *in vivo*, 243 patients ont été examinés durant la période d'étude dont 142 (58,4%) fébriles. Parmi ces fébriles, 89 (62,7%) étaient porteurs de plasmodies. Les espèces plasmodiales rencontrées étaient : *P. falciparum* seul 89,9% (80/89); *Plasmodium malariae* seul 2,2% (2/89). Sept lames ont présenté des infections mixtes : 2,2% à *P. falciparum* / *Plasmodium vivax*; 5,6% à *P. falciparum* / *P. malariae*. Parmi les 80 patients fébriles parasités par *P. falciparum*, 66 ont satisfait aux critères d'inclusion : 33 personnes de sexe masculin et 33 de sexe féminin. La moyenne d'âge est de 12 ans (âges extrêmes : 1 mois et demi - 45 ans). Le poids moyen s'élève à 28 kg. Le taux de perdus de vue est de 6,5%. 4 sujets n'ont pas pu être suivis jusqu'à J14 : 1 exclu par suite d'apparition de signes d'aggravation à J0; 3 absents (l'un à J14; les 2 autres à J2). Toutes les tranches d'âge ont été représentées (Tableau I).

La moyenne des températures à J0 a été de 39,0° C. Tous les patients sont apyrétiques dès J2 et le restent jusqu'à J14. La Moyenne Géométrique des Densités Parasitaires (MGDP) est de 6743,6 tpm à J0. Elle chute à 131,3 tpm chez les positifs à J2 (45/62), accuse une recrudescence chez les positifs à J7 (1 071,8 tpm) (15/62) et reste à peu près au même niveau à J14 (1 190,2 tpm) (22/62) (Figure 1).

Tableau I : Répartition de la population d'étude. Sainte Marie février - avril 2000

Tranche d'âges (ans)	0-4	5-4	5-9	10-14	15	Total
Nombre	13	12	9	8	20	62

50 sujets (80,6%) ont répondu favorablement au traitement administré (RCA) tandis que 12

(19,4%) ont présenté un échec thérapeutique (ETP ou ETT) (Tableau II).

Chez les réponses classées RCA, l'évolution de la MGDP chez les positifs est la même que celle observée dans les résultats globaux. De même chez les réponses classées ETP ou ETT, sauf que les chiffres sont plus élevés à J0, J2 et à J14 (Figure 2).

Quant à la température, si la moyenne chez les RCA est de 38,8° C à J0, une apyrexie totale est observée à J14. Chez les ETP ou ETT, elle est de 39,4° C à J0 et de 37,8° C à J14 (Figure 3).

Les échecs thérapeutiques à la chloroquine ont répondu favorablement à l'association sulfadoxine-pyriméthamine.

Pour l'étude *in vitro*, au total 27 isolats de *P. falciparum* (71%) sur les 38 testés ont été interprétables au moins avec une molécule antipaludique (Tableau III).

Aucun isolat résistant à l'amodiaquine ou à la quinine n'a été détecté. Les valeurs de la CI50 de l'amodiaquine variaient de 4,4 à 32,3 nM avec une moyenne géométrique de 9,4 nM (n = 13; IC 95% = 4,7 - 14,1 nM).

Quant à la quinine, la médiane des CI50 était de 98,5 nM avec une moyenne géométrique de 93,1 nM (n = 26 ; IC 95% = 48,1 - 138,1 nM).

Un isolat était résistant à la méfloquine avec une CI50 = 124 nM et pourtant 84% des valeurs de la CI50 de la méfloquine étaient inférieures à 15 nM. La moyenne géométrique des CI50 de la méfloquine était de 12,3 nM (n = 25 ; IC 95% = 3,1 - 21,5 nM). Cet isolat méfloquino-résistant était sensible à la chloroquine et aux autres molécules testées.

Tableau II : Les réponses au traitement appliqué. Sainte Marie février - avril 2000

Nombre	RCA (%)	ETP (%)	ETT (%)
62	50 (80,6)	3 (4,9)	7 (14,5)

Tableau III : Réponse *in vitro* des isolats de *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques majeurs à Sainte Marie

Molécule testée	Nb isolats interprétables	Moyenne géométrique C150 en Nm*	Nb isolats résistants (%)
Chloroquine	27	34 (20-49,8)	4 (14,8)
Amodiaquine	13	9,4 (4,7-14,1)	0
Méfloquine	25	12,3 (3,1-21,5)	1 (4)
Quinine	26	93,1 (48,1-138,1)	0

* : Intervalle de confiance 95%

Le test à la chloroquine a permis de détecter 4 isolats résistants (14,8%) correspondant respectivement à des CI50 de 115,5; 118,4; 130,1 et 148,7 nM. 81,5% des CI50 observées (22/25) étaient inférieures à 80 nM. La moyenne géométrique des CI50 de la chloroquine était de

34,9 nM (n = 27 ; IC 95% = 20 - 49,8 nM). Les 4 isolats chloroquino-résistants étaient sensibles à l'amodiaquine.

Figure 1 : Evolution générale des paramètres de suivi chez les enrôlés dans l'étude. Sainte Marie février-avril 2000

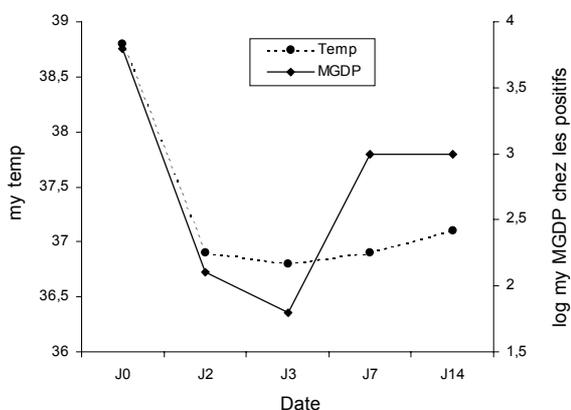


Figure 2 : Evolution des MGDP chez les 2 groupes d'étude (RCA et ETP ou ETT). Sainte Marie février-avril 2000

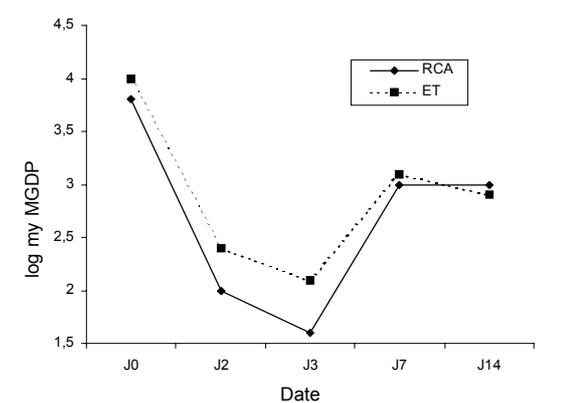
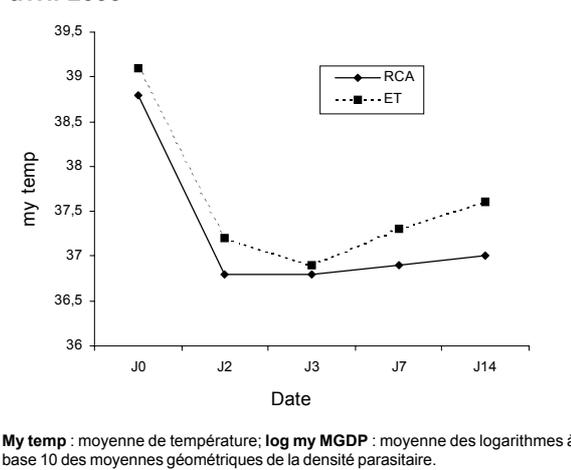


Figure 3 : Evolution de la fièvre chez les 2 groupes d'étude (RCA et ETP ou ETT). Sainte Marie février-avril 2000



My temp : moyenne de température; log my MGDP : moyenne des logarithmes à base 10 des moyennes géométriques de la densité parasitaire.

Les corrélations entre les activités de la chloroquine et de la méfloquine d'une part, de l'amodiaquine et de la méfloquine d'autre part étaient négatives. Les corrélations entre les activités de la chloroquine et de la quinine d'une part, de l'amodiaquine et de la quinine d'autre part étaient

faibles. Les valeurs de p montrent en plus que ces corrélations ne sont pas significatives. Par contre, les corrélations entre les activités de la méfloquine et de la quinine, de la chloroquine et de l'amodiaquine étaient importantes (Tableau IV).

Tableau IV : **Corrélation entre les réponses des isolats de *Plasmodium falciparum* de Sainte Marie aux différents antipaludiques testés *in vitro***

Antipaludiques	Nombre tests	r de Spearman	Valeur de p
Chloroquine amodiaquine	13	0,92	< 0,0001
Chloroquine méfloquine	25	- 0,09	0,67
Chloroquine quinine	25	0,23	0,26
Amodiaquine méfloquine	13	- 0,02	0,95
Amodiaquine quinine	13	0,36	0,22
Méfloquine quinine	25	0,50	0,009

En ce qui concerne la comparaison des études *in vivo* et *in vitro*, plus de 80% des souches ont présenté une sensibilité à la chloroquine aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Parmi les 4 cas de résistance *in vitro*, 1 cas a été exclu du protocole *in vivo*. Quant aux 3 autres isolats, 1 réponse concorde pour les 2 types de test tandis que les 2 autres sont discordantes.

DISCUSSION

Dans l'étude *in vivo*, le taux des perdus de vue a été <10%, ce qui permet une bonne interprétation des résultats. Notre étude confirme ce qui a toujours été rapporté lors des études antérieures à savoir la relative efficacité de la chloroquine avec 81% de réussite. L'aspect des courbes des paramètres de suivi le confirme également.

Bien que notre étude rapporte 19% d'échecs thérapeutiques, en nous référant aux divers paramètres de suivi, nous constatons qu'une action non négligeable de l'antipaludique est observée. Des études antérieures (classification OMS 1994) ont rapporté un taux de résistance *in vivo* variant de 10 à 30% dans toute l'île [17]. L'OMS préconise de changer de traitement quand le seuil de 25% est dépassé. Certes, ce seuil n'est pas encore atteint à Sainte Marie, mais il nous faut préserver cette situation privilégiée par rapport aux autres pays d'Afrique où le taux de résistance est très élevé. Améliorer par exemple les méthodes diagnostiques, procéder à une Information-Education-Communication de la population sur la maladie de façon à leur inculquer la notion de dose adéquate à prendre en cas d'automédication, assurer une meilleure prise en charge de cas, assurer une bonne gestion des médicaments antipaludiques sont autant de facteurs qui y contribuent.

Diverses études menées dans différentes localités de Madagascar ont confirmé l'existence d'une hétérogénéité de cette chloroquino-résistance tout comme la transmission [17,18] et l'extrapolation des résultats de Sainte Marie à l'ensemble du pays est hasardeux. Aussi, pour pouvoir appréhender à sa juste valeur l'état de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine à Madagascar, les études devront être multipliées et intéresser le maximum de localités. Un pas a été fait dans cette direction car un Réseau d'Etude de la Résistance (RER) a vu le jour en septembre 1999. Son objectif, afin d'harmoniser la surveillance de la résistance, est la promotion d'études *in vitro* qui ont accusé un certain retard vis-à-vis de celles *in vivo* [6].

Le traitement des échecs thérapeutiques à la chloroquine par la sulfadoxine-pyriméthamine a été un succès. Le choix de cet antipaludique par le Programme National de Lutte contre le Paludisme en deuxième intention est justifié, bien qu'une résistance ait été détectée avant sa mise sur le marché [19]. D'autres molécules susceptibles de prendre le relai de la chloroquine devraient faire l'objet d'une évaluation.

L'étude *in vitro* de la sensibilité des isolats de *P. falciparum* à Sainte Marie a des conclusions limitées par le faible nombre de tests interprétables. Bien que les enfants de moins de 1 an n'aient pas été prélevés pour des raisons éthiques, la réalisation d'études similaires dans d'autres régions de la Côte Est est suggérée. Les résultats confirment néanmoins la circulation d'isolats de *P. falciparum* résistants à la méfloquine [12,20]. Le niveau de la résistance des isolats à la chloroquine, compte tenu des valeurs de la CI50, a été modéré. La prévalence de la résistance à la chloroquine (14,8%) est en concordance avec la situation notée sur les marges des hautes terres centrales depuis le début des années 1990 [18,20]. Des études antérieures réalisées à Madagascar ont montré l'efficacité thérapeutique de la quinine [18]. L'efficacité de l'amodiaquine a été prouvée en Afrique [14,21] et à Madagascar au milieu des années 1980 [22]. La sensibilité des isolats malgaches chloroquino-résistants à la quinine et à l'amodiaquine nous offre deux alternatives : leur utilisation pour le traitement des accès palustres simples en cas de contre-indication à la chloroquine, et l'utilisation de l'amodiaquine pour la politique nationale de lutte en cas d'augmentation de la prévalence de la chloroquino-résistance.

CONCLUSION

L'extension de la chimiorésistance prédomine dans la situation actuelle du paludisme dans le monde et l'apparition progressive de la résistance à la chloroquine nécessite de mieux préciser les

protocoles thérapeutiques utilisables. Notre étude a montré que près de 81% des souches ont présenté une sensibilité à la chloroquine aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* et que même en cas d'échec thérapeutique, la molécule exerce encore une certaine action. L'association sulfadoxine-pyriméthamine en deuxième intention est également efficace. L'étude de la résistance s'avère plus que jamais de première importance aussi bien lors de la surveillance de l'efficacité des molécules utilisées qu'avant la mise sur le marché de nouveaux produits. A l'heure actuelle où les outils pour étudier la résistance sont plus performants, notre défi est de les mettre à profit pour prévoir et anticiper un changement de stratégie.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos vifs remerciements au Directeur de la DIRDS de Tamatave, au responsable régional du paludisme de Tamatave, au Médecin Inspecteur de Sainte Marie, au Médecin Chef du CHD I d'Ambodifotatra et de ses collègues, au Médecin résident du CHD I d'Ambodifotatra et de son personnel, au Médecin Chef des CSB II d'Ambodifotatra et de Vohilava et de leur staff, aux autorités locales, à la population de Sainte Marie et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cette étude. Nos remerciements vont également à la banque de sang de l'Hôpital Militaire d'Antananarivo qui a fourni les produits sanguins utilisés dans cette étude et à M. Christian MOUSTACHE du Service Informatique de l'Institut Pasteur de Madagascar qui nous a aidé à informatiser les méthodes de calcul. Cette étude a bénéficié des fonds du crédit FAC IG du Ministère de la Coopération Française (n° 99004900).

REFERENCES

- 1- Goasguen J, Gentelet B, Moreau JP, Fourquet R, Coulanges P. *Plasmodium falciparum* chloroquinorésistant ? A propos des deux premiers cas malgaches. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1975; **44** : 144-146.
- 2- Arronson B, Bengtsson E, Bjorkmann A, Pehrson PO, Rongo L, Wahlgren M. Chloroquine resistant *falciparum* malaria in Madagascar and Kenya. *Ann Trop Med Parasitol* 1981; **75** : 367-373.
- 3- Coulanges P, Le Bras J, Deloron P, Ramanamirija JA, Biaud JM, Marchais H. Etude *in vivo* et *in vitro* de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à Madagascar, 1982 - 1986. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1987; **53** : 63-76.
- 4- Lepers JP, Deloron P, Mouden JC, Le Bras J, Coulanges P. Sudden increase in number of isolates of *Plasmodium falciparum* resistant to chloroquine in Madagascar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1989; **83** : 491-492.
- 5- Raharimalala L, Lepers JP, Lepers-Rason MD, Rabarison P, Ramambanirina L, Roux J. Aspects de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine à Madagascar de 1982 à 1993. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1993; **60** : 60-64.
- 6- Institut Pasteur de Madagascar. Rapport d'activités, 1997. Antananarivo : IPM, 1998 : 111.
- 7- Mouchet J, Blanchy S, Rakotonjanabelo A, Ranaivoson G, Rajaonarivelo E, Laventure S, Rosselle M, Aknouche F. Stratification épidémiologique du paludisme à Madagascar. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1993; **60** : 50-59.
- 8- Jambou R, Raharimalala L, Milijaona R, Rakotomanana F, Randrianasolo L, Ratsimbasoa A, Pfister P. Etude de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à Madagascar : (2) Efficacité de la quinine base 250 mg (Surquina®) dans le traitement de l'accès palustre simple. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1998; **64** : 56-61.
- 9- WHO. Antimalarial drug policies : data requirements, treatment of uncomplicated malaria and management of malaria in pregnancy. Report. Geneva : WHO, 1994 (WHO/MAL/94. 1070).
- 10- Ministère de la Santé de Madagascar. Déclaration de politique nationale de lutte contre le paludisme. Antananarivo : Ministère de la Santé, 1998 : 8.
- 11- WHO. Evaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué dans les régions à transmission élevée. Genève : OMS, 1996 (WHO/MAL/96.1077).
- 12- Le Bras J, Deloron P. *In vitro* study of drug sensibility of *Plasmodium falciparum* : an evaluation of a new semi-microtest. *Am J Trop Med Hyg* 1983; **32** : 447-451.
- 13- Milijaona R, Jambou R, Raharimalala L, Ranaivo L, Rason MA, Roux J. Mefloquine resistant strains of *Plasmodium falciparum* in Madagascar : impact for travellers and public health. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; **94** : 313-317.
- 14- Le Bras J, Ringwald P. Situation de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* en Afrique en 1989. *Med Trop* 1990; **50** : 1-16.
- 15- Brasseur P, Agnamey P, Ekobo AS, Samba G, Favennec L, Kouamouo J. Sensitivity of *Plasmodium falciparum* to amodiaquine and chloroquine in central Africa : a comparative study *in vivo* and *in vitro*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; **89** : 528-530.
- 16- Basco LK, Le Bras J. *In vitro* susceptibility of Cambodian isolates of *Plasmodium falciparum* to halofantrine, pyronaridine and artemisinin derivatives. *Ann Trop Med Parasitol* 1994; **88** : 131-136.
- 17- Jambou R, Raharimalala L. Chimiosensibilité du parasite du paludisme à la chloroquine à Madagascar. *BIESP* 1995; **2** : 5.
- 18- Raharimalala AL, Ramambanirina L, Rason MA, Ranaivo L, Lepers JP, Jambou R. Hétérogénéité de la transmission et chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques à Madagascar : une relation à surveiller. *Med Trop* 1995; **55** : 84.
- 19- Rakoto SA, Raharimalala L, Jambou R. Etude de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à Madagascar: (1) Situation des médicaments de seconde ligne à Taolagnaro (Quinine, Sulfadoxine-pyriméthamine). *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1998; **64** : 51-55.
- 20- Milijaona R, Raharimalala L, Ramambanirina L, Ranaivo LH, Jambou R. Chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* sur les marges des hautes terres malgaches : perspectives pour le programme national de lutte. *Med Trop* 1998, **58** : 261-265.
- 21- Brasseur P, Guiguemde R, Diallo S, Guiyedi V, Kombila M, Ringwald P, Olliaro P. Amodiaquine remains effective for treating uncomplicated malaria in west and central Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; **93** : 645-650.
- 22- Olliaro P, Nevill C, Ringwald P, Mussano P, Garner P, Brasseur P. Systematic review of amodiaquine treatment in uncomplicated malaria. *Lancet*, 1996; **348** : 1196-1201.