

PARASITOLOGIE

Tests *in vivo* de chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine au Sénégal : évolution de la résistance et estimation de l'efficacité thérapeutique.

C. S. Sokhna, J. F. Molez, P. Ndiaye, B. Sane & J. F. Trape (1) (2)

(1) Laboratoire de paludologie, ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal, Tél : 221 32 09 62 ; Fax : 221 32 16 75

(2) Manuscrit n°1755. «Parasitologie». Accepté le 19 février 1997.

Correspondance et tirés-à-part : Dr. J.F. Trape, ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal

Summary: *In vivo* sensitivity of *Plasmodium falciparum* to chloroquine in Senegal: evolution of resistance and assessment of therapeutic efficacy

Key-words: Malaria - Plasmodium falciparum - Drug resistance - *In vivo* tests - Chloroquine - Mlomp - Bandafassi-Ibel - Dihione - Pikine - Senegal

The efficacy of oral chloroquine was assessed in 360 out-clinic patients with symptomatic *Plasmodium falciparum* malaria who were enrolled at five sites, in four administrative regions of Senegal, between 1991 and 1995. They were three rural areas: Mlomp (Casamance), Bandafassi-Ibel (Eastern Senegal), Dihione (Sine-Saloum) and one urban area: Pikine (agglomeration of Dakar). Parasitological failure at Day-7 was observed in 108 patients (30%) and ranged from 14% to 50% according to the study areas. The proportion of RI, RII and RIII responses were 6%, 23% and 1%, respectively. Chloroquine resistance was lowest in Bandafassi, one of the most remote area of Senegal. It was highest in Mlomp where a malaria control programme with mass chemoprophylaxis had been carried out since 1975. The therapeutic failure rate defined by the persistence or reappearance of fever and *P. falciparum* trophozoites on days 4-7 was 6%. The percentages of therapeutic failure for RI, RII and RIII patients were respectively 14%, 19% and 100%. These results and those of previous studies in Senegal suggest that chloroquine resistance, which first emerged *in vivo* in 1988 in Dakar, spread between 1990 and 1993 in all regions of this country. The limitations of *in vivo* tests for the determination of the therapeutic efficacy of chloroquine in malaria endemic regions with increasing chemoresistance are discussed. The low proportion of potentially severe malaria infections in semi-immune persons, the biases in patients selection, and the possibility of delayed complications, considerably limit the potential of these tests for guiding the choice of the best adapted first line treatment.

Résumé :

Des tests *in vivo* de chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine ont été effectués entre 1991 et 1995 chez des malades consultant dans des dispensaires situés dans quatre régions du Sénégal : Mlomp (Casamance), Bandafassi-Ibel (Sénégal oriental), Dihione (Sine-Saloum) et Pikine (agglomération de Dakar). Sur un total de 360 tests effectués chez des patients dont l'âge moyen était de 11 ans, 108 (30%) ont mis en évidence une persistance de la parasitémie ou sa réapparition précoce (RI : 6%, RII : 23%, RIII : 1%). Selon les régions, la proportion de cas de résistance variait de 14 % à 50 %. Elle était minimum à Bandafassi, une des régions les plus isolées et les moins médicalisées du Sénégal, et maximum à Mlomp, site d'un important programme de chloroquinisation depuis 1975. Un échec thérapeutique précoce (défini par la persistance ou la réapparition de la fièvre, entre J4 et J7, avec présence de trophozoïtes de *P. falciparum*) a été observé chez 6 % des patients. Ce taux était respectivement de 14 %, 19% et 100% en cas de réponse RI, RII et RIII. Ces résultats et ceux des études antérieures au Sénégal suggèrent que la résistance à la chloroquine, qui a émergé *in vivo* en 1988 dans l'agglomération de Dakar, s'est progressivement étendue entre 1990 et 1993 à l'ensemble des régions du pays. Les limites des tests *in vivo* pour apprécier l'efficacité thérapeutique de la chloroquine en zone d'endémie dans un contexte de chimiorésistance croissante sont discutées. La faible proportion d'infections potentiellement graves chez les sujets semi-immuns, les biais de sélection des malades et la possibilité de complications tardives ont pour conséquence de limiter considérablement l'apport de ces tests pour guider utilement le choix du traitement de première intention le plus adapté.

Mots-clés : Paludisme - Plasmodium falciparum - Résistance médicamenteuse - Tests *in vivo* - Chloroquine - Mlomp - Bandafassi-Ibel - Dihione - Pikine - Sénégal

Introduction

La résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine est apparue en Afrique de l'Ouest dans la deuxième moitié des années 1980 et s'est rapidement étendue à l'ensemble des pays de cette partie de l'Afrique (4). Au Sénégal, les premières

observations de souches de *P. falciparum* à sensibilité réduite *in vitro* à la chloroquine ont été faites en 1984 et 1985 (2, 6). Toutefois, des tests *in vitro* effectués l'année suivante dans les mêmes localités n'ont pas permis de mettre en évidence de nouveaux cas (BRANDICOURT, communication personnelle) et près de 500 souches provenant de diverses régions du Sénégal

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote : B* 10879 Ex : 1 83

010010879

étudiées en 1986 et 1987 étaient toutes parfaitement sensibles (28). L'émergence d'une résistance *in vivo* a été mise en évidence pour la première fois au Sénégal en octobre 1988 à Dakar et dans sa banlieue (11, 28). Dans cette agglomération, la prévalence des souches chloroquino-résistantes, qui n'était que de 7% fin 1988, atteignait 47% fin 1990 (12). Les premiers cas de résistance *in vivo* dans d'autres régions du pays ont été mis en évidence en 1990 -notamment à Kaolack, en Casamance et dans la région du fleuve Sénégal, dont un cas de type RIII- mais la plupart des régions rurales semblaient encore indemnes de résistance en 1991 (27 & TRAPE *et al.*, non publié).

Dans cet article, nous présentons des résultats d'enquêtes permettant de décrire l'émergence et l'évolution récente de la résistance à la chloroquine dans quatre régions du Sénégal. Nous présentons également une analyse des dossiers cliniques des 360 patients suivis lors de ces enquêtes, ceci afin d'apporter des éléments de discussion à la question de la place des tests *in vivo* pour apprécier l'efficacité thérapeutique de la chloroquine dans les régions où une forte proportion de souches de *P. falciparum* est résistante à ce médicament.

Matériel et méthodes

Zones d'études

Les enquêtes ont été effectuées chez des malades consultant dans des dispensaires ruraux et un dispensaire urbain situés dans quatre régions du Sénégal (Fig. 1). Les sites d'études ont été choisis en raison de l'existence de programmes de recherche sur la morbidité et la mortalité palustres dans ces mêmes régions. Ils sont fortement différenciés en ce qui concerne les conditions éco-épidémiologiques et socio-économiques.

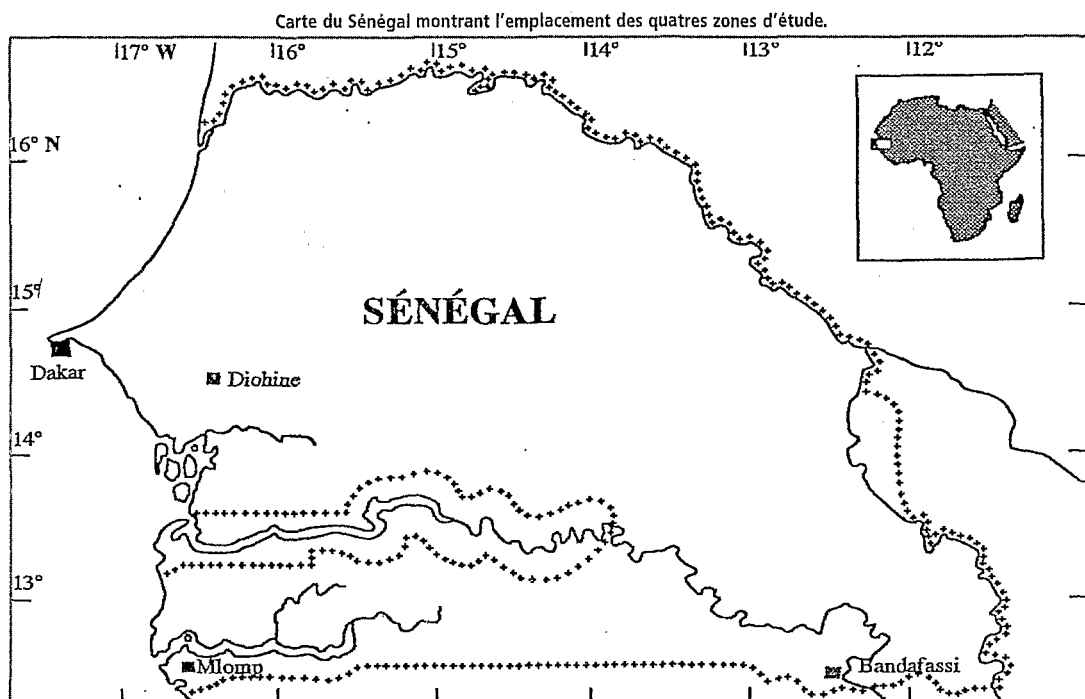
Le village de Mlomp est situé en Basse Casamance (sud-ouest du Sénégal). Le climat est sub-guinéen et la pluviométrie, qui est distribuée de juin à novembre, est en moyenne de 1200 mm par an depuis 1970. La population est presque exclusivement composée d'agriculteurs d'ethnie diola. Mlomp et les dix villages voisins étaient l'objet depuis 1975 d'un important programme de chloroquinisation initié par les sœurs

infirmières de la mission catholique de Mlomp et mis en œuvre pendant près de 20 ans par le Comité de santé des villages concernés (17). Ce programme concernait toutes les classes d'âge de la population (environ 7 000 personnes) et consistait en la prise hebdomadaire de chloroquine de juin à novembre chaque année. A la fin de la saison de transmission des années 1988 et 1989, deux études randomisées à partir du recensement général de la population indiquaient que seulement 5% des enfants et 12% des adultes résidant dans les onze villages concernés par ce programme avaient une goutte épaisse positive (17). Les premières souches chloroquino-résistantes sont apparues à Mlomp fin 1990 (20). En novembre 1992, une nouvelle enquête randomisée indiquait que la prévalence du paludisme était désormais de 46% chez les enfants et de 38% chez les adultes (20). Ces résultats, joints à ceux des tests de chimiosensibilité présentés dans cet article, ont conduit en 1994 le Comité de santé à décider l'abandon de la chimioprophylaxie pour toutes les classes d'âge de la population, à l'exception des enfants de moins de 4 ans et des femmes enceintes.

Les villages de Bandafassi et d'Ibel, distants de 10 km, sont situés à l'extrême sud-est du Sénégal, à 700 km de Dakar, dans le département de Kédougou. Le climat et la végétation sont de type soudanien et la pluviométrie moyenne annuelle est de 1100 mm (période 1970-1992). C'est une des régions les plus isolées du Sénégal, au mode de vie traditionnel. La mortalité des enfants de moins de cinq ans, qui atteignait encore 410 pour mille en 1985 (16), reste toujours une des plus élevées du Sénégal, bien qu'elle ait diminué de plus de 30% ces dernières années sous l'effet de campagnes de vaccination (5) et de la formation d'agents de santé communautaire. Les résultats des enquêtes paludométriques anciennes (14) et récentes indiquent toutes l'existence d'un paludisme holoendémique. En février 1995 (milieu de saison sèche), l'examen des gouttes épaisses d'un échantillon randomisé de 368 habitants de la zone d'étude indiquait un indice plasmodique de 83% chez les enfants et de 31% chez les adultes (TRAPE, non publié).

Le village de Diöhine est situé à environ 150 km au sud-est de Dakar, dans la zone d'étude de Niakhar où un observatoire permanent de population a été installé en 1962 et où des études

Figure.



d'efficacité de nouveaux vaccins (rougeole, coqueluche) sont effectuées depuis 1987 (20). Dans cette zone entièrement défrichée depuis le début du siècle pour la culture de l'arachide, le climat est sahélo-soudanien et la pluviométrie moyenne annuelle depuis 1970 est inférieure à 500 mm. La transmission du paludisme est limitée à une période de trois mois (août à octobre). L'indice plasmodique chez les enfants est généralement inférieur à 30% en fin de saison sèche mais dépasse 80% en fin de saison de transmission du paludisme (MOLEZ & TRAPE, non publié).

L'agglomération de Pikine, banlieue de Dakar, est située dans la presqu'île du Cap-Vert. La pluviométrie moyenne annuelle depuis 1970 est d'environ 400 mm. La transmission du paludisme débute en août et se prolonge jusqu'en décembre en raison de l'existence de vastes dépressions marécageuses à proximité de l'agglomération. Son niveau est toujours très faible (maximum une piqûre infectante par personne par an en bordure immédiate des marais) et l'indice plasmodique varie de 2% à 7% selon les saisons et les quartiers de la ville (26). Du fait de l'absence d'immunité protectrice, chaque nouvelle infection occasionne un accès palustre chez les enfants et la majorité des adultes de Pikine (25, 29).

Tests de chimiosensibilité *in vivo*

Tous les tests dont les résultats sont rapportés dans ce travail ont été effectués selon des modalités similaires chez des malades consultant en dispensaire. Sur une période d'environ une semaine qui était choisie en période de transmission maximum du paludisme, tous les malades consultant pour un syndrome fébrile d'apparition récente et évocateur de paludisme étaient prélevés pour une goutte épaisse. Celle-ci était colorée au Giemsa rapide sans déshémoglobination préalable et examinée moins d'une heure après le prélèvement initial. Les critères d'inclusion pour un test *in vivo* étaient les suivants : donner son consentement au test, être âgé d'au moins un an, présenter une parasitémie à *P. falciparum* d'au moins 5 000 trophozoïtes par μ l de sang, ne pas présenter une association d'espèces plasmodiales, ne pas présenter de signes de gravité, ne pas avoir pris d'antipaludique les jours précédents. La chloroquine (Nivaquine® en comprimés de 100 mg) a été administrée par voie orale à la dose totale de 25 mg/kg répartie sur 3 jours (10 mg le 1er et le 2ème jour, 5 mg le 3ème jour). Les trois prises ont été effectuées en notre présence et le patient gardé en surveillance pendant 30 minutes après la première prise pour détecter tout vomissement précoce. Les malades étaient revus tous les jours de J1 à J7 (à partir de 1994, les visites systématiques à J3, J5 et J6 ont été supprimées chez les patients dont l'évolution clinique était rapidement favorable) et l'évolution de la maladie était notée sur un questionnaire standardisé. Sauf cas particulier, cette surveillance était effectuée à domicile, ceci afin de limiter le taux de perdus de vue (de 0% à 3% des effectifs selon les enquêtes). Une goutte épaisse de contrôle était systématiquement effectuée à J2, J4 et J7. Dans le cas des enquêtes de Pikine et Niakhar, une goutte épaisse supplémentaire a été effectuée à J14.

En cas d'échec thérapeutique, les critères de prescription d'un nouvel antipaludique étaient les suivants : apparition de signes de gravité (aucun cas observé), absence d'amélioration clinique nette à J3 (aucun cas observé), persistance ou réapparition de la fièvre après J3. Par ailleurs, quel que soit leur état clinique, tous les sujets dont la goutte épaisse était positive en fin de test étaient systématiquement traités par la sulfadoxine-pyriméthamine.

Nous avons exclu de l'analyse les malades pour lesquels des vomissements répétés avaient conduit à un changement de thérapeutique avant la fin du traitement complet par chloroquine (de 0% à 8% des effectifs selon les enquêtes). L'ensemble des gouttes épaisses a été relu en fin d'étude par le même technicien expérimenté ; 200 champs microscopiques (équivalent de 0,5 μ l de sang) ont été systématiquement examinés pour chaque goutte épaisse. Dans l'exposé des résultats, les critères suivants de classification des réponses au traitement ont été utilisés : S = pas de trophozoïte décelable à J7 (sensible ou RI tardif) ; RI = pas de trophozoïte décelable à J2 ou J4 mais réapparition à J7 (RI précoce) ; RII = trophozoïtes présents à J2, J4 et J7, parasitémie à J2 ou J4 inférieure à 25% de la parasitémie initiale ; RIII = trophozoïtes présents à J2 et J4, parasitémies à J2 et J4 supérieures à 25% de la parasitémie initiale. Nous avons classé comme échec thérapeutique les cas pour lesquels la persistance ou la réapparition après J3 d'une température supérieure ou égale à 38°C était associée à la persistance ou à la réapparition de trophozoïtes de *P. falciparum*, quelle que soit leur densité.

Résultats

Mlomp

Les résultats des séries de tests effectuées chaque année de 1991 à 1994 (en octobre les deux premières années et en août les deux années suivantes) sont indiqués sur le tableau I.

Au total, 140 patients ont été inclus, dont deux ont été perdus de vue avant J7 et un a été exclu en raison de vomissements répétés qui ont conduit à un changement de traitement dès J0. L'âge des 137 patients étudiés variait de 1 à 59 ans (moyenne : 11,1 ans, enfants de moins de 5 ans : 23%). Une résistance à la chloroquine a été mise en évidence chez 68 patients (49,6%). La proportion des tests indiquant une réponse de type RI (11,6%), RII (36,5%) et RIII (1,5%) n'a pas montré d'évolution nette de 1991 à 1994. Toutefois, les deux seuls cas de résistance RIII ont été observés lors des deux dernières séries.

Tableau I.

Répartition des réponses des stades asexués de *P. falciparum* lors de quatre séries de tests standards *in vivo* de 7 jours de chimiosensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine. Mlomp (Sénégal), 1991-1994.

année	1991	1992	1993	1994	total	%
S	16	19	19	15	69	50,4
RI	5	7	0	4	16	11,6
RII	12	11	12	15	50	36,5
RIII	0	0	1	1	2	1,5
total	33	37	32	35	137	100

Chez 34 patients (25%), la parasitémie à J2 était supérieure à 25% de la parasitémie initiale. L'évolution ultérieure a montré qu'il s'agissait d'infections de type RIII dans deux cas seulement. Les autres réponses étaient de type RII (20 cas), RI (4 cas) ou S (8 cas).

A J2, 22 patients (5 S, 1 RI, 14 RII, 2 RIII) avaient encore une température $\geq 38^\circ\text{C}$, dont 11 des malades précédents. A l'exception de 5 patients (soit 4% de l'effectif initial), tous étaient apyrétiques le lendemain. Malgré la persistance de la fièvre, ces cinq patients présentaient à J3 une nette amélioration clinique. L'un d'entre eux a guéri cliniquement et parasitologiquement à J4 et était toujours négatif à J7. La poursuite ou la réapparition de la fièvre après J3 chez les quatre autres malades (2 RII et 2 RIII) a conduit à administrer un nouveau traitement.

Sur une période de surveillance de 7 jours, 15 échecs thérapeutiques ont été observés (11%). Outre les quatre cas de fièvre persistante mentionnés précédemment, il s'agissait de 11 malades dont la fièvre est réapparue entre J4 et J7 (3 RI et 8 RII). Par ailleurs, quatre malades qui ont définitivement guéri cliniquement et parasitologiquement à J4 ont présenté une recrudescence thermique (38,0°-38,2°C) à J3.

Bandafassi-Ibel

Deux séries de tests ont été effectuées : en novembre 1994 à Bandafassi et en novembre 1995 à Ibel. Au total, 75 patients ont été inclus, dont trois ont été perdus de vue avant J7 et un a été exclu à J1 en raison de vomissements répétés. L'âge des 71 patients étudiés variait de 1 à 54 ans (moyenne : 8,9 ans ; enfants de moins de 5 ans : 44%). Sur 34 tests de 7 jours effectués lors de la première série, 4 (12%) indiquaient une résistance. Il s'agissait de deux cas de type RI et de deux cas de type RII. Lors de la deuxième série l'année suivante, 6 tests sur 37 (16%) indiquaient une résistance. Il s'agissait de 6 cas de type RII.

Deux patients avaient à J2 une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale (S : 1 cas, RII : 1 cas) tout en étant apyrétiques. Un seul des 71 patients n'était toujours pas apyrétique à J2. Ce malade a définitivement guéri cliniquement et parasitologiquement dès J3. Un seul patient a présenté une réapparition de la fièvre entre J3 et J7. Il s'agit d'un malade RII dont les symptômes (fièvre à 38°C et asthénie) sont réapparus à J7.

Diohine

Trois séries de tests ont été effectuées en octobre-novembre 1993, 1994 et 1995. Au total, 107 patients ont été inclus, dont trois ont été perdus de vue avant J7 et deux ont été exclus en raison de vomissements répétés qui ont conduit à un changement de traitement à J0 et J2. L'âge des 102 patients étudiés variait de 1 à 56 ans (moyenne : 8,7 ans ; enfants de moins de 5 ans : 56%). Sur 39 tests de 7 jours réalisés en 1993, 4 (10%) indiquaient une résistance. Il s'agissait de 3 cas de type RII et d'un cas de type RIII. Lors de la deuxième série de tests effectuée en 1994, 27 patients ont eu un test de 7 jours et ont de nouveau été prélevés à J14. A J7, 4 patients (15%) présentaient une réponse indiquant une résistance à la chloroquine (de type RII dans les quatre cas). A J14, 4 nouveaux patients présentaient des trophozoïtes de *P. falciparum*, soit un total de 30% de réponses évoquant une résistance. En 1995, 36 patients ont eu un test de 7 jours et ont de nouveau été prélevés entre J17 et J20. A J7, 6 patients (17%) présentaient une réponse indiquant une résistance (de type RII dans 5 cas et de type RIII dans un cas). A J17 (8 cas) ou J20 (1 cas), 9 nouveaux patients présentaient des trophozoïtes de *P. falciparum* (dont 6 à une densité supérieure à 10 000 trophozoïtes par µl de sang), soit un total de 42% de réponses évoquant une résistance.

Trois patients avaient à J2 une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale. L'évolution ultérieure a montré qu'il s'agissait de réponses RIII dans deux cas et RII dans un cas. A J2, 6 patients étaient encore fébriles, dont un seul des malades précédents. Il s'agissait de réponses RIII (1 cas), RII (1 cas) et S (4 cas). A J4, ces quatre derniers patients étaient guéris cliniquement et parasitologiquement et les deux autres étaient toujours fébriles.

Sur une période de 7 jours, 4 échecs thérapeutiques ont été observés (5%). Outre les deux cas mentionnés précédem-

ment, il s'agissait de 2 malades dont la fièvre est réapparue entre J4 et J7 (1 RII et 1 RIII).

Pikine

Une série de tests a été effectuée en octobre 1994. Au total, 60 patients ont été inclus dans l'étude, dont cinq ont été perdus de vue avant J7 et cinq ont été exclus avant J2 en raison de vomissements répétés qui ont conduit à un changement de traitement. 50 patients ont eu un test complet de 7 jours et 47 d'entre-eux ont de nouveau été contrôlés à J14. Leur âge variait de 1 à 70 ans (moyenne : 19,2 ans ; enfants de moins de 5 ans : 10%). A J7, 16 patients (32%) présentaient une réponse indiquant une résistance à la chloroquine (RI dans 3 cas et RII dans 13 cas). A J14, 5 nouveaux patients présentaient des trophozoïtes de *P. falciparum*, soit un total de 45% de réponses évoquant une résistance.

Neuf patients présentaient à J2 une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale (S : 1 cas, RI : 2 cas, RII : 6 cas). A J2, 4 patients (8%) étaient encore fébriles, dont trois des malades précédents. Ces quatre patients étaient apyrétiques à J3, mais l'évolution ultérieure a montré qu'il s'agissait de réponses RI (1 cas) ou RII (3 cas), dont deux associées à une rechute clinique (à J4 pour un malade RII et à J14 pour le malade RI). Au total, le taux d'échec thérapeutique était de 6% à J7 (3 malades RII) et de 15% à J14 (4 nouveaux malades, dont 2 RI et 2 RII).

Discussion

Evolution de la résistance à la chloroquine au Sénégal

Peu d'études ont été publiées sur la chimiosensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine au Sénégal. Toutefois, des données assez nombreuses ont été collectées ces dix dernières années, soit localement à l'occasion d'enquêtes systématiques de terrain ou d'analyse de dossiers de malades ayant présenté un échec thérapeutique, soit chez des voyageurs dont l'infection contractée au Sénégal a été diagnostiquée lors du retour dans le pays d'origine. Ces données et celles présentées dans cet article permettent de retracer les grandes lignes de l'évolution de la résistance à la chloroquine au Sénégal.

Il est établi que de très rares souches résistantes *in vitro* circulaient déjà au Sénégal dès 1984 (2). Toutefois, la chronologie de l'émergence de la résistance *in vivo* en Afrique (4), sa survenue seulement en 1988 au Sénégal, et son caractère immédiatement explosif dans les zones à forte pression médicamenteuse de ce pays, indiquent clairement que son émergence au Sénégal s'est bien inscrite dans la phase ultime du processus général de progression géographique Est-Ouest de ce phénomène en Afrique.

A Pikine, où la transmission est très faible, la plupart des infections sont symptomatiques et entraînent ainsi l'administration de chloroquine. Ceci explique que la progression de la résistance a été très rapide initialement, de 7% de souches résistantes fin 1988 à 47% fin 1990 (12, 28). En 1992, une diminution a été observée, avec seulement 24% de cas de résistance (10) ; cette diminution était peut-être seulement apparente (l'effectif total était de 25 malades testés), mais elle a aussi été associée à des conditions climatiques défavorables à la reprise rapide de la transmission pendant la saison des pluies, ce qui a probablement aug-

menté la part des porteurs de gamétocytes infectés en zone rurale dans la reprise de la transmission. Les données de 1994 indiquent un taux proche de celui de 1990, mais elles montrent aussi une progression constante depuis 1988 de la proportion relative des souches RII par rapport aux souches RI. Ceci est probablement la conséquence de la pression thérapeutique qui entraîne une plus forte production de gamétocytes par les malades présentant des infections RII que par ceux présentant des infections RI (18). Il est à noter que toutes les études *in vivo* réalisées depuis 1988 à Pikine ont été effectuées selon le même protocole dans le même dispensaire.

Dans le cas de Mlomp, malgré plus de quinze années de chloroquinisation massive, cette drogue était encore parfaitement efficace en 1989, ainsi que l'attestent le maintien jusqu'à cette date d'un indice plasmodique très faible et l'évolution ultérieure de l'endémie palustre et de la consommation d'antipaludiques (tableau II).

Tableau II.

Evolution de la prévalence du paludisme chez les enfants, de la proportion de souches chloroquino-résistantes, du nombre de consultations pour paludisme présumé et des achats de quinine et de chloroquine par le dispensaire*, Mlomp (Sénégal), 1988-1995.

année	prévalence ^a	résistance- in vivo	quinine (amp. 400mg)	chloroquine (c.100mg)	malades paludisme ^{oo}
1988	4 %	-	600	45 000	4 388
1989	6 %	-	700	55 000	3 661
1990		10 %#	900	90 000	4 958
1991		51 %	2 300	85 000	4 061
1992	46 %	49 %	6 300	125 000	4 451
1993		41 %	3 000	107 000	4 953
1994	51%	57 %	4 000	96 000	6 095
1995			6 900	108 000	4 650

* traitement des patients consultant au dispensaire et achat de chloroquine par les villageois
^a enfants de 0-14 ans (enquête par sondage au 1/3 à partir du recensement de la population des onze villages, examen de 200 champs microscopiques à l'immersion de la goutte épaisse).

^{oo} malades consultant au dispensaire de Mlomp qui ont été considérés comme des cas de paludisme sur des arguments cliniques (nouveaux cas seulement, les malades revenant en consultation pour le même épisode pathologique n'étant pas décomptés).

pas d'enquête systématique, estimation à partir de trois cas documentés.

La fréquence élevée à partir de 1990-1991 des échecs thérapeutiques avec la chloroquine a entraîné une très forte augmentation de l'administration de quinine par le dispensaire de Mlomp, mais aussi un doublement de la consommation de chloroquine, sans qu'il y ait de modification appréciable de l'incidence des nouveaux cas présumés de paludisme. Dans cette population qui était faiblement immune avant l'émergence de la résistance à la chloroquine, la majorité des infections palustres étaient associées à la survenue d'un épisode clinique, ce qui explique que près du tiers des causes de consultation pour syndrome fébrile étaient déjà dues au paludisme avant l'émergence de la chloroquino-résistance (17). Selon les infirmières du dispensaire, le principal changement expliquant l'augmentation de la consommation d'antipaludiques a été une forte augmentation du nombre de malades revenant consulter pour le même épisode pathologique. Ceci est en accord avec nos observations montrant que la persistance de la fièvre à J2 est significativement associée aux infections RII et RIII et qu'un échec thérapeutique précoce est observé une fois sur cinq en cas d'infection RII (tableau III). La stabilisation *in vivo* de la résistance à un niveau proche de 50% est un phénomène fréquemment observé en Afrique tropicale. Elle pourrait être avant tout liée à l'immunité protectrice partielle des sujets inclus dans les tests et ne pas refléter l'évolution de la sensibilité *in vitro* qui continuerait à diminuer.

Tableau III.

Tests de chimiosensibilité à la chloroquine au Sénégal : récapitulatif, en fonction de la réponse *in vivo*, des cas de persistance à J2 d'une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale, des cas de persistance à J2 de la fièvre et des cas d'échec thérapeutique.

réponse <i>in vivo</i>	S	RI	RII	RIII	total
effectif	252	21	83	4	360
parasitémie J2/J0 > 0,25	10 (4,0%)	6 (29%)	28 (34%)	4 (100%)	48 (13,3%)
fièvre à J2 ^o	11 (4,4%)	1 (5%)	18 (22%)	3 (75,0%)	33 (9,2%)
échec thérapeutique ^{oo}	0 (0,0%)	3 (14%)	16 (19%)	4 (100%)	23 (6,4%)

^o Température rectale $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ou température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$

^{oo} Persistance à J4 ou réapparition entre J4 et J7 d'une température rectale $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ou d'une température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$

Dans le cas des régions de Diohine et Bandafassi-Ibel, les premiers échecs thérapeutiques avec la chloroquine ont été remarqués par les personnels de ces dispensaires respectivement en 1992 et 1993, ce qui nous a conduits à débiter des tests systématiques dès l'année suivante afin de suivre l'évolution de la chimiorésistance. Sa progression dans sa phase initiale apparaît beaucoup moins rapide qu'à Dakar-Pikine et à Mlomp, certainement en raison d'une pression de sélection plus faible dans ces régions où la médecine traditionnelle conserve une place importante, y compris pour le traitement des épisodes fébriles aigus. Il est à noter que des infections RII ou RIII ont été mises en évidence dès la première enquête dans ces deux régions. Par ailleurs, la fréquence élevée à Diohine des repositivations survenant moins de 20 jours après le début du traitement par la chloroquine semble difficilement attribuable à des réinfections. Dans notre expérience au Congo et au Sénégal avant l'émergence de chloroquinorésistance, une repositivation avant la fin de la troisième semaine était rare, la plupart des repositivations ne survenant qu'après 24 ou 30 jours (J.F. TRAPE, non publié).

Nos observations suggèrent que la totalité des régions du Sénégal sont désormais concernées par l'extension de la chimiorésistance. La mobilité de la population est partout importante et son ampleur est parfois considérable. Ainsi, dans le cas de Mlomp, près de 50% des adultes de 15 à 60 ans sont des migrants saisonniers, revenant au village en période de culture ou de récolte, et repartant ensuite soit vers les villes (principalement les femmes, pour le petit commerce ou un placement comme bonne), soit vers d'autres zones rurales dans l'ensemble du Sénégal (spécialisation des hommes dans la récolte du vin de palme) (8). Même lorsqu'ils sont moins fréquents et en l'absence de forte pression médicamenteuse, ces mouvements de population tendent à uniformiser le niveau de chimiorésistance. Ainsi, dans le village de Dielmo (Sine-Saloum), seule la quinine orale ou injectable a été utilisée de 1990 à 1995 pour le traitement des cas de paludisme et l'absence complète d'utilisation de chloroquine a été confirmée par des tests systématiques de dépistage des antipaludiques dans les urines (19, 30). Alors qu'en 1990 *P. falciparum* était parfaitement sensible à la chloroquine à Dielmo, le niveau de chloroquino-résistance dépasse 40% en 1995 et est similaire à celui des autres villages de la région (23).

La fréquence des réponses de type RIII est encore faible au Sénégal, inférieure à 2%. Toutefois, il est à noter que si nous avons utilisé comme critère d'une réponse RIII l'ancienne définition de l'OMS (parasitémie à J2 supérieure à 25% de la parasitémie de J0), 13% des malades auraient été classés comme ayant une réponse RIII. Le tableau III montre que les réponses

S, RI et RII représentent ensemble près de 92% des cas de forte parasitémie à J2. La nécessité d'utiliser un autre critère a déjà été soulignée, notamment en Thaïlande pour les tests *in vivo* à la méfloquine (24). Il est désormais proposé d'utiliser comme critère le niveau de la parasitémie à J3, en conservant le même taux de réduction par rapport à J0 (15).

Chimiorésistances et efficacité thérapeutique

Jusqu'à présent, la progression de la chloroquino-résistance n'a eu que peu de conséquences sur la politique de santé des pays africains et sur la place de la chloroquine dans le traitement du paludisme. Bien qu'une proportion élevée de personnes traitées par la chloroquine n'éliminent pas leur parasitémie, on observe habituellement une disparition rapide de la fièvre et des autres symptômes, ainsi que le confirment les résultats de cette étude. Cette apparente innocuité relative de la plupart des souches résistantes explique qu'il est généralement admis que l'utilisation de la chloroquine comme médicament de première intention reste justifiée, même si une forte proportion de malades traités demeurent parasitémiques (1, 3, 13). Par ailleurs, les alternatives possibles à la chloroquine sont peu nombreuses et incertaines. Tous les autres médicaments sont soit beaucoup plus coûteux (9) -et pour cette raison inabordable pour la majorité des populations africaines-, soit eux aussi déjà plus ou moins concernés par le phénomène de chimiorésistance (6). A l'exception du Malawi, qui a officiellement remplacé la chloroquine par la sulfadoxine-pyriméthamine comme traitement de première ligne du paludisme (1), la chloroquine est restée le principal médicament antipaludique utilisé par tous les pays d'Afrique.

Les résultats de séries de tests *in vivo* montrant une disparition de la fièvre chez la plupart des malades présentant une réponse de type RI ou RII, voire même parfois RIII, permettent-ils d'affirmer que la chloroquine conserve une bonne efficacité thérapeutique ? Nous pensons que non, pour trois raisons. La première est la rareté des études sur la gravité potentielle après J7 des infections par des souches résistantes. Une complication aussi fréquente que l'anémie n'est reconnue que depuis quelques années seulement (1). Aucune étude n'a cherché à préciser la fréquence des formes graves du paludisme associées à ces infections persistantes. Une deuxième raison est d'ordre méthodologique. Les malades qui présentent des vomissements répétés dont le début se situe plusieurs heures après la première prise de chloroquine sont toujours exclus des tests, soit dès l'inclusion (quand la première prise a été administrée hors protocole, généralement à domicile), soit à J1 ou J2 (quand la deuxième ou la troisième prises ne peuvent être administrées ou qu'un changement de thérapeutique -en général injection de quinine- est déjà intervenu à l'initiative du malade). Pourtant, c'est pour ces patients chez qui la première dose de chloroquine n'empêche pas une exacerbation des symptômes que le risque d'apparition d'un paludisme grave associé à une infection par une souche résistante est le plus grand (TRAPE *et al.*, en préparation). De ce fait, il existe un biais de recrutement qui tend à faire juger l'efficacité thérapeutique d'un médicament sur les seuls malades exposés aux formes les plus frustrées de la maladie. Enfin, une troisième raison est d'ordre conceptuel : les tests *in vivo*, qui ont été

établis pour apprécier l'évolution de la parasitémie sous un schéma thérapeutique donné, ne sont pas adaptés à une comparaison du risque de survenue de complications graves du paludisme en zone d'endémie. Dans les populations semi-immunes, y compris chez les jeunes enfants qui sont seuls exposés aux formes graves de la maladie, seule une faible proportion des accès palustres est susceptible d'être à l'origine de complications graves et la plupart des accès palustres, même non traités, guérissent rapidement. Aussi, observer que la plupart des malades présentant une infection persistante ne présentent plus de symptômes après quelques jours d'évolution ne permet pas de conclure quant à la part relative d'efficacité thérapeutique conservée par la chloroquine.

Pour ces trois raisons, nous pensons que seule une approche basée sur l'étude de la survie à moyen terme de cohortes de jeunes enfants traités pour un accès palustre permettrait de comparer l'efficacité de différents schémas thérapeutiques. La létalité d'un accès palustre non traité chez un enfant africain étant estimée à environ 2% seulement (22, 29), l'effectif de malades qu'il est nécessaire d'inclure dans une étude comparant deux schémas thérapeutiques de première intention (avec un même traitement de deuxième intention en cas d'échec thérapeutique) est très important. Il devrait sans doute être supérieur à un millier d'enfants pour permettre la mise en évidence d'une diminution significative du risque de décès sous l'effet d'un traitement de première intention mieux adapté que la chloroquine à la chimiosensibilité actuelle des infections palustres au Sénégal.

Conclusion

Situé à l'extrémité ouest de l'Afrique, le Sénégal a été le dernier pays africain touché par la diffusion de la résistance à la chloroquine. Cette diffusion intéresse désormais l'ensemble du pays. Au niveau local, le principal facteur qui détermine la vitesse de la progression et du renforcement de la résistance semble être la pression médicamenteuse et non l'intensité de la transmission. Bien qu'ils soient indispensables pour préciser l'ampleur et l'évolution de la résistance, les tests *in vivo* ou *in vitro* de chimiosensibilité ne permettent pas d'appréhender la question majeure que soulève ce phénomène : celle de son impact sur la mortalité palustre. L'évaluation à large échelle de nouveaux schémas thérapeutiques de première intention dans le cadre de programmes de recherches comportant une surveillance démographique des populations concernées et l'étude rétrospective des circonstances et causes de décès nous semble la seule approche possible pour recueillir les données nécessaires à l'adaptation de la lutte antipaludique à la dégradation continue de la chimiosensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine.

Remerciements

Ce travail a reçu le soutien financier du Ministère français de la coopération. La réalisation des tests n'aurait pas été possible sans la collaboration étroite des personnels de santé des dispensaires de Mlomp, Diöhine, Pikine, Bandafassi et Ibel que nous remercions vivement. Nous adressons également nos vifs remerciements à M. le Professeur S. DIALLO pour son appui constant, à MM. H. BOUGANALI, G. NDIAYE, R. BIAGUI, A. BADJI, T. DIOP et H. BASSÈNE pour leur aide technique, et à MM. G. PISON, F. SIMONDON, O. GAYE, C. ROGIER, V. ROBERT et à Mme C. ENEL pour leurs conseils.

Références bibliographiques

1. BLOLAND P B, LACKRITZ E M, KAZEMBE P N, WERE J B O, STEKETEE R & CAMPBELL C C - Beyond chloroquine: implications of drug resistance for evaluating malaria therapy efficacy and treatment policy in Africa. *J. Inf. Dis.*, 1993, **167**, 932-937.
2. 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**, 717-721.
3. BRANDLING-BENNETT A D, OLOO A J, WATKINS W M, BORGIA D A, KARIUKI D M & COLLINS W E - Chloroquine treatment of *falciparum* malaria in an area of Kenya of intermediate chloroquine resistance. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1988, **82**, 833-837.
4. CHARMOT G, AMAT-ROZE J M, RODHAIN F, LEBRAS J & COULAUD J P - Abord géographique de l'épidémiologie de la chloroquinorésistance de *Plasmodium falciparum* en Afrique Tropicale. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1991, **71**, 187-197.
5. DESGREES DU LOU A & PISON G - Barriers to universal child immunization in rural Senegal 5 years after the accelerated expanded programme on immunization. *Bull. Org. mond. santé*, 1994, **72**, 751-759.
6. DRUILHE P & BRASSEUR P - Poly-chimiorésistances du paludisme : en un combat douteux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1994, **5**, 292-306.
7. DRUILHE P, BRASSEUR P, BRANDICOURT O, KOUAMOOU J, RICHARD-LENOBLE D, DIOUF F et al. - *Plasmodium falciparum* drug resistance in West Africa. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1986, **66**, 297-300.
8. ENEL C, PISON G & LEFEBVRE M - Migrations and marriage changes. A case study of Mlomp, a Joola village in the southern part of Senegal. In: Bledsoe C & Pison G, eds. *Nuptiality in sub-Saharan Africa: current changes and their potential impacts on fertility*. New York: Oxford University Press, 1994, pp 92-113.
9. FOSTER S D - Pricing, distribution and use of antimalarial drugs. *Bull. OMS.*, 1991, **69**, 349-363.
10. GAYE O, BABOU I, FAYE O, FALL A, MOLEZ J F et al. - Morbidité palustre et efficacité thérapeutique des antipaludéens. Etude menée dans la région de Dakar. *Méd. Trop.*, 1993, **53**, 479-485.
11. GAYE O, BAH I B, DIALLO S, VICTORIUS A, BENGUA E & FAYE O - Emergence du paludisme chloroquinorésistant à Dakar (Sénégal). *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1990, **70**, 33-37.
12. GAYE O, FAYE O, BAH I B, DIALLO S, DIOUF M et al. - Evolution de la chloroquinorésistance en zone urbaine. Résultats d'enquêtes menées à Dakar et Pikine. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1991, **71**, 329-330.
13. HOFFMAN S L, MASBAR S, HUSSEIN P R, SOEWARTA A, HARUN S et al. - Absence of malaria mortality in villagers with chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* treated with chloroquine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1984, **78**, 175-178.
14. LARIVIERE M, HOCQUET P & ABONNENC E - Résultats d'une enquête palustre dans la république du Sénégal. *Indices plasmodiques chez les enfants en milieu rural. Bull. Soc. Méd. Afr. Noire Lgue frse*, 1961, **6**, 386-402.
15. O.M.S. - Antimalarial drug policies ; data requirements, treatment of uncomplicated malaria, and prophylaxis in pregnancy. Report of a WHO Informal consultation 14-18 March 1994. WHO/MAL/94.1070.
16. PISON G & LANGANEY A - The level and age pattern of mortality in Bandafassi (Eastern Senegal): results from a small-scale and intensive multi-round survey. *Pop. Studies*, 1985, **39**, 387-405.
17. PISON G, TRAPE J. F, LEFEBVRE M & ENEL C. - Rapid decline in child mortality in a rural area of Senegal. *Int. J. Epidemiol.*, 1993, **22**, 72-80.
18. ROBERT V, MOLEZ J. F & TRAPE J. F - Gametocytes, chloroquine pressure and the relative parasite survival advantage of resistant strains of *falciparum* malaria in West Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996, **55**, 350-351.
19. ROGIER C, BRAU R, TALL A, CISSE B & TRAPE J F - Reducing the oral quinine-quinidine-cinchonine (Quinimax®) treatment of uncomplicated malaria to 3 days does not increase the recurrence of attacks among children living in a highly endemic area of Senegal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1996, **90**, 175-178.
20. SANE B - Etude de l'impact de la chloroquinorésistance sur l'épidémiologie du paludisme à Mlomp (Casamance), Sénégal. Mémoire de DEA de biologie animale, Université de Dakar, 1994, 64 pp.
21. SIMONDON F, PREZIOSI M P & MARRA A - The Niakhar study area (Senegal). In: L. Hviid & P.H. Jakobsen, *Proceedings of the First African malaria vaccine testing network meeting*, Arusha 22-24 February 1995, pp 81-83.
22. SUDRE P, BREMAN J G & KOPLAN J P - Delphi survey of malaria mortality and drug resistance in Africa. *Lancet*, 1990, **335**, 722.
23. TALL A, ROGIER C, GNING M, NDIAYE F, DIANE SARR F, LY A B, et al. - Prévalence élevée de résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine en l'absence de pression de sélection. *Bull. Epiter*, 1996, **9**, 14-16.
24. TER KUJLE F O - Mefloquine, halofantrine and artesunate in the treatment of uncomplicated *falciparum* malaria in a multi-drug resistant area. *Academisch proefschrift*, Universiteit van Amsterdam, 1994, 212 pp.
25. TRAPE J F, LEFEBVRE-ZANTE E, LEGROS F, DRUILHE P, ROGIER C et al. - Malaria morbidity among children exposed to low seasonal transmission in Dakar, Senegal and its implication for malaria control in Tropical Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1993, **48**, 748-756.
26. TRAPE J F, LEFEBVRE-ZANTE E, LEGROS F, NDIAYE G, BOUGANALI H et al. - Vector density gradients and the epidemiology of urban malaria in Senegal. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **47**, 181-189.
27. 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**, 669-670.
28. TRAPE J F, LEGROS F, NDIAYE P, KONATE L, BAH I B et al. - Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83**, 761.
29. TRAPE J F & ROGIER C - Combatting malaria morbidity and mortality by reducing transmission. *Parasitology Today*, 1996, **12**, 236-240.
30. TRAPE J F, ROGIER C, KONATE L, DIAGNE N, BOUGANALI H, CANQUE B et al. - The Dielmo project: a longitudinal study of natural malaria infection and the mechanisms of protective immunity in a community living in a holoendemic area of Senegal. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1994, **51**, 123-137.