

# Sensibilité, gamétocytogénèse et infectivité pour *Anopheles gambiae* après traitement des souches de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine, à l'amodiaquine et à la sulfadoxine-pyriméthamine

Njokou M.<sup>1</sup>, Youbi J.<sup>2</sup>, Boudin Christian

<sup>1</sup>Laboratoire de Recherche sur le paludisme. LAF 302. OCEAC. BP 288 Ydé-Cameroun

<sup>2</sup>Médecin Hôpital d'Olamzé Sud-Cameroun

## Résumé

La sensibilité *in vivo* de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine, à l'amodiaquine et à la sulfadoxine-pyriméthamine a été évaluée dans une zone rurale du Cameroun. L'importance a été accordée à la gamétocytogénèse post-thérapeutique et à l'infectivité des gamétocytes pour le moustique. Les souches plasmodiales ont montré une faible sensibilité à la chloroquine (52,3%) et une bonne sensibilité à l'amodiaquine (92,1%) et à la sulfadoxine-pyriméthamine (90,2%). Le suivi de la gamétocytogénèse post-thérapeutique a révélé une prévalence gamétocytaire de 27% après traitement à la chloroquine, de 5,2% après traitement à l'amodiaquine et de 22% après traitement à la sulfadoxine-pyriméthamine. Le taux élevé de densité gamétocytaire post-chloroquine est fortement lié à la résistance à ce médicament.

Les gamétocytes issus du traitement à la chloroquine tout comme ceux issus du traitement à l'amodiaquine, ont été beaucoup plus infectants pour le moustique que ceux issus du traitement à la sulfadoxine-pyriméthamine. Ceci a paru être un atout pour la sulfadoxine-pyriméthamine reconnue gamétocytogène.

**Mots clés :** Chloroquine, amodiaquine, sulfadoxine-pyriméthamine, *Plasmodium falciparum*, sensibilité, gamétocytogénèse, infectivité.

## Introduction

La chimiothérapie du paludisme utilise des médicaments variés qui agissent à des stades divers du parasite (Bruce-Chwatt, 1981 ; Sinden, 1983 ; Burgess et Bray, 1961 ; Rieckmann *et al.*, 1968 ; Chutmongkonkul *et al.*, 1992). De tout cet arsenal médicamenteux, la chloroquine est l'antimalarique le plus utilisé contre les accès simples en Afrique. Malheureusement, les souches de *P. falciparum* sont devenues résistantes à cette amino-4-quinoléine (Payne, 1987). Au Cameroun, le phénomène a été découvert pour la première fois par Sansonetti *et al.* (1985) et depuis lors, il semble se répandre de manière inhomogène dans tout le pays (Gazin *et al.*, 1990 ; Mulder *et al.*, 1992 ; Agnamey *et*

*al.*, 1995). Il devient donc urgent de mesurer l'ampleur de la chloroquinorésistance et de trouver un médicament de remplacement. Deux candidats potentiels déjà prisés par la population peuvent être proposés. Il s'agit de l'amodiaquine et de la sulfadoxine-pyriméthamine.

Cependant, certains auteurs estiment qu'en fonction du médicament administré, on peut favoriser l'apparition des gamétocytes à partir des stades asexués (Handunnetti *et al.*, 1996 ; Price *et al.*, 1996 ; Puta et Manyando., 1996) par action directe ou indirecte du médicament.

Il existe un effet direct du médicament sur la gamétocytogénèse en raison probablement :

- d'une action retardée de la molécule qui laisse le temps au parasite de souffrir et donc de dévier



son cycle vers la gamétocytogenèse, ou d'un effet encore inconnu du médicament sur la phase précoce de la gamétocytogenèse (Jeffery *et al.*, 1956).

On peut aussi signaler un effet indirect du médicament par le biais de la résistance (Strickland *et al.*, 1986; Robert *et al.*, 1996; Robert et Trape, 1997; Hogli *et al.*, 1998) qui fait souffrir les souches résistantes sans les détruire, favorisant ainsi la gamétocytogenèse et la dispersion des souches résistantes.

Les gamétocytes générés pouvant être infectants pour le moustique, l'effet gamétocytogène associé à l'infectivité constitue dès lors un risque épidémiologique sur lequel on doit se pencher avant d'opter pour le remplacement de la chloroquine. Au regard de ce risque, il semble judicieux d'étudier non seulement la sensibilité des souches locales de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine, à l'amodiaquine et à la sulfadoxine-pyriméthamine, mais aussi d'étudier l'effet gamétocytogène direct ou indirect des ces molécules et leur potentielle répercussion sur l'infectivité pour le moustique.

## Matériel et Méthodes

### Zone d'étude

L'étude a été menée en zone rurale hyper-endémique de Mengang (Cameroun).

Le district de Mengang est situé à 100 km à l'Est de Yaoundé en zone de forêt dégradée. Son climat est de type guinéen, avec alternance de deux saisons pluvieuses et de deux saisons sèches. Le vecteur majeur du paludisme y est *Anopheles gambiae* en zone déboisée (Boudin, Comm pers). Alors que *Anopheles moucheti* est surtout présent en zone forestière. Le taux d'inoculation dû à ces deux espèces oscille entre 30 et 150 piqûres infectantes par homme et par an.

La prévalence parasitaire y est de 80% à 100% dans la population de 0-15 ans, avec une faible variation saisonnière. La prévalence des porteurs de gamétocytes est maximale en Mars-Avril au moment du pic de morbidité. Toutefois les densités gamétocytaires moyennes restent faibles (6 gamétocytes/mm<sup>3</sup> de sang).

Cette zone a été choisie en raison de son accessi-

bilité, de son niveau de transmission élevé, et de la forte prévalence de sa population.

### Population cible

L'étude a concerné des sujets asymptomatiques dans la population générale du village. L'examen parasitologique de la goutte épaisse a permis d'inclure les infections monospécifiques à *Plasmodium falciparum* et de charge parasitaire  $\geq 1000$  trophozoïtes/mm<sup>3</sup> de sang.

### Test de chimiosensibilité

L'épreuve réalisée a été dérivée de celle de l'O.M.S. (1973). Les sujets inclus dans l'étude ont reçu un traitement soit à la chloroquine à la dose de 25 mg/kg de poids corporel sur 3 jours; soit à l'amodiaquine à la dose de 30 mg/kg de poids corporel sur 3 jours; soit à la sulfadoxine-pyriméthamine à la dose de 500mg/25mg/20kg de poids corporel sur 1 jour. Ce traitement au jour d'inclusion du sujet (J0) a précédé des contrôles parasitologiques aux 3<sup>ème</sup> (J3), 9<sup>ème</sup> (J9) et 14<sup>ème</sup> (J14) jours après traitement.

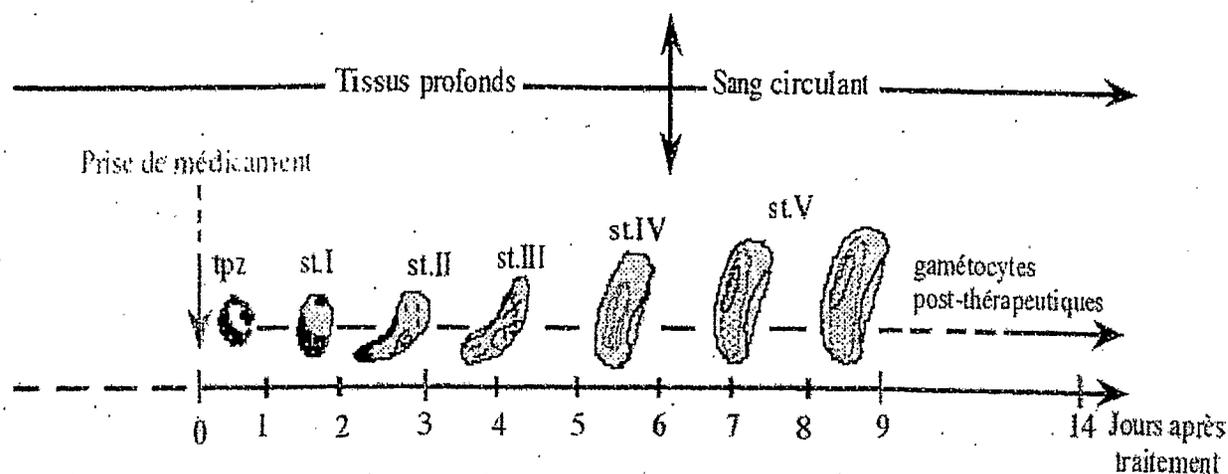
Deux niveaux de sensibilité ont été déterminés: - le niveau S a regroupé les sujets dont la disparition des formes érythrocytaires asexuées était signalée dans les 3 jours suivant le traitement sans recrudescence à J9 et à J14;

- le niveau R a caractérisé la persistance (J3) ou la réapparition (J9/J14) des parasites malgré le traitement à la dose efficace.

### 4- La gamétocytogenèse post-thérapeutique

Pour bien comprendre nos critères de définition de la poussée gamétocytaire post-thérapeutique, il est nécessaire de savoir qu'un gamétocyte de *Plasmodium falciparum* se développe pendant la plus grande partie de son cycle dans les organes profonds, seul le stade mûr est circulant. En outre, ce développement est divisé en 5 stades et se déroule en 7 jours *in vitro* (Hawking *et al.*, 1971; Smalley, 1977).

En admettant qu'*in vivo*, un gamétocyte met théoriquement 7 jours comme *in vitro* pour initier son développement et parvenir à maturité, les gamétocytes mûrs du stade v n'apparaîtront dans le sang circulant que 7 jours après le stimulus thérapeutique de J0. En raison de la maturation infectante qui dure de 1 à 2 jours,



La chloroquine et l'amodiaquine tuent les jeunes gamétocytes des stades I à III (âgés de 2-4 jours) (Peters, 1970 ; Smalley et Sinden 1977). Après 3 jours de traitement chez un sujet dépourvu de gamétocytes à J0, il est donc probable qu'un éventuel gamétocyte soit post-thérapeutique.

La sulfadoxine-pyriméthamine quant à elle ne tue pas les gamétocytes, même au stade jeune. Il est donc possible d'avoir les gamétocytes pré-thérapeutiques chez un sujet dépourvu de gamétocytes à J0, après 3 jours de traitement. Il faudrait alors chercher les gamétocytes post-sulfadoxine-pyriméthamine environ 7 jours après traitement.

#### Infectivité des gamétocytes post-thérapeutiques pour le moustique

L'infection s'est faite à partir du sang pris à J9 sur un porteur de «néogamétocytes» post-thérapeutiques avec une densité  $\geq 8$  gamétocytes/mm<sup>3</sup> de sang. Il s'agit en effet d'une infection artificielle (Boudin *et al.*, 1997) sur membrane de gorgement pour *Anopheles gambiae*. L'infection est positive lorsqu'au moins un moustique du lot disséqué est positif en oocyste.

#### Résultats

- Le test de chimiosensibilité a révélé une sensibilité des souches locales de *Plasmodium falciparum* de l'ordre de 52,4% à la chloroquine, 92,9% à l'amodiaquine et 90,2% à la sulfadoxine-pyriméthamine. Les résultats sont donnés dans le tableau I.

**Tableau I :** sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine (CQ), à l'amodiaquine (AQ) et à la sulfadoxine-pyriméthamine (SP).

	CQ	AQ	SP
Effectif total	126	154	82
Sensibilité	52,3% (n=62)	92,1% (n=143)	90,2% (n=74)

- Le pouvoir gamétocytogène des médicaments a été évalué en considérant seulement les «néogamétocytes» post-thérapeutiques (tableau II). Après traitement à la chloroquine, 34 sujets ont développé les gamétocytes avec une densité moyenne de 37 gamétocytes/mm<sup>3</sup> de sang ; Tandis qu'après traitement à l'amodiaquine et à la sulfadoxine-pyriméthamine, 8 et 18 personnes respectivement ont développé les gamétocytes avec les densités moyennes de 9,75 et 66,25 gamétocytes/mm<sup>3</sup> de sang.

**Tableau II :** pouvoir gamétocytogène de la chloroquine, de l'amodiaquine et de la sulfadoxine-pyriméthamine.

	CQ	AQ	SP
Prévalence Gamétocytaire j9/14	27% (n=126)	5,5% (n=154)	22% (n=82)
Densité gamétocytaire j9/14 (gam/mm <sup>3</sup> )	37	9,75	66,25

En regardant les données de la gamétocytogénèse post-chloroquine (reconnue gamétocytocide), on pourrait soupçonner l'influence de certains facteurs dans la «néo-poussée gamétocytaire». La résistance peut être ici le premier facteur susceptible. Les tableaux III et IV nous présentent respectivement les «néo-poussées

**Tableau III :**  
néogamétocytogénèse chez les sujets sensibles ou résistants

	S	R	T
Néogam -	58	34	92
Néogam +	8 (12,12%)	26(43,3%)	34
T	66	60	12

$\chi^2 = 15,5$ ,  $p < 10^{-4}$ , DS

gamétocytaires» chez les sujets résistants et la variation de cette poussée en fonction du niveau de résistance.

**Tableau V :**

Infectivité des gamétocytes issus des traitements à la chloroquine, à l'amodiaquine et à la sulfadoxine-pyriméthamine

C Q		A Q		S P	
Densité (gam/mm <sup>3</sup> )	Infection (nb+/nb diss)	Densité (gam/mm <sup>3</sup> )	Infection (nb+/nb diss)	Densité (gam/mm <sup>3</sup> )	Infection (nb+/nb diss)
19	4/18	16	8/24	96	13/19
16	15/25	8	1/30	32	9/27
18	19/28	12	13/30	64	0/40
12	7/30	13	2/10	86	0/30
16	22/30	39	0/14	100	0/33
37	0/25			16	0/30
8	0/19			16	0/18
11	0/23			18	0/30
9	0/30			16	0/30
8	0/30			32	0/27
10	0/24			11	0/30
9	0/15				
9	0/17				
8	0/34				
13	0/29				
33% (5/15)		80% (4/5)		18% (2/11)	

sujets traités à la chloroquine parmi lesquelles 5 positives (33%) ; 5 après traitement à l'amodiaquine avec 4 positives (80%) et 11 après traitement à la sulfadoxine-pyriméthamine avec 2 positives (18%).

**Tableau IV :**

Néogamétocytogénèse en fonction du niveau de résistance

	S	RI	RII/RIII	T
Néogam -	58	12	22	92
Néogam +	8 (12,12%)	13 (52%)	13 (37,1%)	34
T	66	25	35	126

$\chi^2 = 17,1$ ,  $p < 10^{-3}$ , DS

On observe beaucoup plus de gamétocytes post-thérapeutiques chez les résistants que chez les sensibles ( $\chi^2 = 15,5$ ,  $p < 10^{-4}$ , DS) (tableau III). Aussi, cette gamétocytogénèse post-thérapeutique augmente avec le niveau de résistance ( $\chi^2 = 17,1$ ,  $p < 10^{-3}$ , DS) (tableau IV).

- En ce qui concerne l'infectivité des gamétocytes pour le moustique (tableau V) : 15 infections ont été effectuées avec les gamétocytes issus des

## Discussion

D'après les résultats, la sensibilité des souches locales de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine n'est pas bonne. Ce constat renforce

l'idée de remplacement de la chloroquine en tant qu'antipaludéen de première intention. Les potentiels remplaçants à savoir l'amodiaquine et la sulfadoxine-pyriméthamine ont montré une bonne efficacité. La bonne efficacité de l'amodiaquine avait déjà été prouvée par de nombreux auteurs au Cameroun (Fadat *et al.*, 1991 ; Louis *et al.*, 1992 ; Ringwald *et al.*, 1998) et dans plusieurs autres pays notamment à Madagascar (Randriamanjaka *et al.*, 1989) et au Kenya (Nevill *et al.*, 1992).

Pour la sulfadoxine-pyriméthamine, son efficacité a été prouvée au Malawi (O.M.S., 1994), au Kenya (Nguyen-Dinh *et al.*, 1982).

Le second volet de ce travail a consisté en un suivi de la gamétocythémie post-thérapeutique. La chloroquine et l'amodiaquine sont théoriquement des médicaments qui tuent les jeunes gamétocytes des stades I à III. Lorsqu'on regarde nos chiffres de poussées gamétocytaires post-chloroquine, aussi bien en prévalence qu'en densité, on peut se demander si ce médicament est vraiment gamétocytocide *in vivo*. Le risque de poussée gamétocytaire dépend étroitement de certains facteurs notamment la résistance. Une souche résistante en présence du médicament, va souffrir sans être tuée et finira par devier son cycle vers la gamétocytogenèse (Boudin *et al.*, 1996). Un moyen qui lui est propre pour pallier à l'hostilité du milieu médicamenteux. C'est la raison pour laquelle les souches résistantes à la chloroquine sont plus gamétocytogènes que les souches sensibles (Robert *et al.*, 1996 ; Robert *et al.*, 1997 ; Handunetti *et al.*, 1997 ; Hogh *et al.*, 1998).

En procédant à une analyse multivariée, on trouve aussi que la densité des stades asexués au jour du traitement et le niveau de résistance influencent sur la «néo-poussée gamétocytaire».

La présence des gamétocytes post-amodiaquine pourrait remettre en question la durée de développement d'un gamétocyte *in vivo*. Aussi certains gamétocytes de J9 (absents à J0 et J3) pourraient en fait résulter d'une souffrance parasitaire juste antérieure au traitement. On peut en effet avoir des gamétocytes du stade IV (âgé de 5-6 jours) encore séquestrés dans les tissus profonds à J0 et échapper à la goutte

épaisse et à l'action de l'amodiaquine (qui ne tue en principe que les gamétocytes des stades I à III). A J3 ces gamétocytes, s'ils sont en faible quantité peuvent passer inaperçus et n'être détectés fortuitement qu'à J9, définissant ainsi une fausse néo-poussée post-thérapeutique.

La sulfadoxine-pyriméthamine quant à elle est réputée gamétocytogène (Wensdorfer, 1988 ; Puta et Manyando, 1997). on observe ici une prévalence et densité gamétocytaires supérieures à celles de l'amodiaquine. Ce résultat confirmerait le pouvoir gamétocytogène de la sulfadoxine-pyriméthamine.

Suite à l'étude de la gamétocytémie post-thérapeutique, quelques infections expérimentales des moustiques d'élevage ont été effectuées. Les infections post-chloroquine et amodiaquine ont été beaucoup plus positives que les infections post-sulfadoxine-pyriméthamine.

La chloroquine n'inhiberait pas l'infectivité des gamétocytes pour le moustique (Wilkinson *et al.*, 1976 ; Rosario, 1988 ; Chutmongkonkul *et al.*, 1992). Les infections positives après traitement par ce médicament seraient dues à la faible densité gamétocytaire. L'amodiaquine étant de la même famille chimique que la chloroquine (Pussard et Verdier, 1994), il semble logique que son rôle sur l'infectivité des gamétocytes soit le même que celui de la chloroquine.

La sulfadoxine-pyriméthamine inhiberait l'infectivité des gamétocytes pour le moustique (Chutmongkonkul *et al.*, 1992 ; Hogh *et al.*, 1998). Une étude récente sur le cycle sporogonique suivi en immunofluorescence directe a permis de dénombrer les gamètes, les zygotes, les ookinètes dans le magma du bol alimentaire et les oocystes de 2 jours sur la paroi stomacale. Seuls étaient absents les oocystes de 7 jours. S'agit-il d'un blocage de maturation exerçant ses effets après l'absorption de la sulfadoxine-pyriméthamine? Une étude spécifique est en cours pour élucider ce mécanisme d'inhibition de l'infectivité.

## Conclusion

La résistance à la chloroquine n'est pas un leurre. De plus ce phénomène a des répercussions sur

la gamétocytogénèse et l'infectivité pour le moustique. Il faudrait sans doute procéder à son remplacement tout au moins en zone hypo-endémique où les densités parasitaires sont élevées ; et aussi dans les zones et les tranches d'âge où la chloroquinorésistance a atteint un seuil critique. Les potentiels remplaçants de la chloroquine ont montré une bonne efficacité. Cependant, la sulfadoxine-pyriméthamine a semblé gamétocytogène comparativement à l'amodiaquine. En revanche, les gamétocytes post-sulfadoxine-pyriméthamine ont été moins infectants que les gamétocytes post-amodiaquine. Ceci est pour la sulfadoxine-pyriméthamine un atout sous un angle épidémiologique.

#### Références bibliographiques

- Agnamey, P, Leroy, G, Kouamouo, J, Brasseur P. Sensibilité *in vivo* et *in vitro* de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine et à l'amodiaquine à Banganté (Ouest-Cameroun). *Bull Soc Path Ex.* 1995, 88 : 149-51.
- Boudin, C, Le Hesran, J,Y, Ringwald, P, Gouagna, C, Safeukui, I, Mulder, B, Verhave J, P. Comparaison de la gamétocytogénèse *in vivo* chez les souches de *Plasmodium falciparum* chloroquino-sensibles ou résistantes. *Bull Liais Doc OCEAC.* 1996, 29 : 9-15.
- Boudin, C, Herrman, C, Gouagna, C, Mulder, Gounoué, R, Tchuinkam, T. L'infectivité des porteurs de gamétocytes de *Plasmodium falciparum*, pour les moustiques vecteurs. Un nouveau paramètre épidémiométrique. *Bull Liais Doc OCEAC.* 1997, 30 : 17-24.
- Bruce-Chwatt, L, J. Chimiothérapie du paludisme. 2ème ed Genève : O.M.S. 1974 : 274 pp.
- Burgess, W, R., Bray, S, R. The effect of a single dose of primaquine on the gametocytes, gametogony and sporogony of *Laverrania falciparum*. *Bull Org Mond Santé.* 1961, 24 : 451-6.
- Chutmongkonkul, M, Maier, A, W, Seitz, M, H. *Plasmodium falciparum* : effect of chloroquine, halofantrine and pyriméthamine on the infectivity of gametocytes for *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Ann Trop Med Parasitol.* 1992, 86 : 103-10.
- Fadat, G, Le Bras, J, Hengy, C, Louis, J, P, Gimou, M., M, Verdier, F. Efficacy of amodiaquine against chloroquine-resistant malaria in Cameroun. *Lancet.* 1991, 338 : 1092.
- Gazin, P, Louis, J, Mulder, L, Eberle, F, Jambou, R, Mayroud, J, Hengy, C. Evaluation par test simplifié *in vivo* de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine dans le Sud-Cameroun. *Med Trop.* 1990, 50 : 27-31.
- Handunnetti, M, S, Gunewardena, M, D, Pathirana, L, S, P, P, Ekanayake K, Weerasinghe S, Mendis, N, K. Features of recrudescence chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* infections confer a survival advantage on parasites and have implications for disease control. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1996, 90 : 563-7.
- Hawking, F, Wilson, M, E, Gamage, K. Evidence for cyclic development and short-live maturity in the gametocytes of *Plasmodium falciparum*. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1971, 65 : 549-59.
- Hogh, B, Thompson, R, Hetzel, C, Fleck L, S, Kruse, A, A, N, Jones, I, Dgedge M, Barreto, J, Sinden, E, R. Specific and non specific responses to *Plasmodium falciparum* blood-stage parasites and observations on the gametocytemia in schoolchildren living in a malaria-endemic area of Mozambique. *Am J Trop Med Hyg.* 1995, 52 : 50-9.
- Hogh B, Gamage-Mendis, A, Butcher, A, G, Thompson, R., Begtrup, K, Mendis, C, Enosse, M, S, Dgedge, M., Barreto J, Eling, W, Sinden, E, R. The differing impact of chloroquine and pyrimethamine/sulfadoxine upon the infectivity of malaria species to the mosquito vector. *Am J Trop Med Hyg.* 1998, 58 : 176-82.
- Jeffery, G, M, Young, M, D, EYLES, D, E. The treatment of *Plasmodium falciparum* infection with chloroquine with a note on infectivity to mosquitoes of primaquine and pyrimethamine-treated cases. *Am Jnl Hyg.* 1956, 64 : 1-11.
- Louis, F, J, Louis J, P, Fadat, G, Maubert, B, Hengy, G, Trebucq, A. Interêt de l'amodiaquine dans le traitement des accès palustres simples à *Plasmodium falciparum* en zone de chloroquinorésistance. *Bull Liais Doc OCEAC.* 1992, 100 : 14-5.
- Louis, F, J, Foumane, V, Bickii, J, Lescieux, A, Chambon, R, Gelas, H, Ringwald, P. Sensibilité *in vivo* à l'amodiaquine de *Plasmodium falciparum* au Cameroun en 1993-1994. *Bull Liais Doc OCEAC.* 1994, 27 : 119.
- Mulder, B, Gazin, P, Eggelte, A, T, Cot, M. Increase of chloroquine resistance *in vivo* of *Plasmodium falciparum* over two years in Edea, South-Cameroon. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1992, 6 : 376.
- Nevill, C, G, Verhoeff, F, H, Munafu, C, G, Ten, Hove, W, R, Van Der Kaay, H, J, Were, B, O. Place de l'amodiaquine dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* en Afrique de l'Est. *Med Af Noire.* 1992, 39 : 697-701.
- Nguyen-Dinh P, Spencer C, H, Chemangey-Masaba, S, Churchill, C, F. Susceptibility of *Plasmodium*

- falciparum* to pyrimethamine and sulfadoxine/pyrimethamine in Kisumu, Kenya. *Lancet*. 1982 i : 823-5.
- O.M.S., serie de rapports techniques. Antimalarial drug policies : data requirements, treatment of uncomplicated malaria and management of malaria in pregnancy. *Report of an informal consultation*. 1994, Geneva, 14-18 March. 1070
- Payne, D. Spread of chloroquinoreistance in *Plasmodium falciparum*. *Parasitology today*. 1987, 3 : 241-5.
- Peters, W. Chemotherapy and drug resistance in malaria. Academic Press : New York and London. 1970
- Price, N, R., Nosten, F, Luxemburger, C, Terkuile, O, F, Paiphun, L, Chong-suphajaisiddhi, I, White, J, N. Effects of artemisinin derivatives on malaria transmissibility. *Lancet*. 1996, 347:1654-8.
- Pussard, E, Verdier, F. Antimalarial amino-4-quinolines : mode of action and pharma-cokinetics. *Fund Clin Phar*. 1994, 8 : 1-17.
- Putz, C, Manyando, C. Enhanced gametocytes production in Fansidar-treated *Plasmodium falciparum* malaria patients : implications for malaria transmission control programmes. *Trop Med Int Hlth*. 1997, 2 : 227-9.
- Randriamanjaka, R, J, Le Bras, J, Charmot, G, Coulaud, P, J. *Plasmodium falciparum* chimioresistant et sulfadoxine-pyriméthamine en Afrique. *Bull Soc Path Ex*. 1989, 82 : 381-4.
- Rieckman, H, K, Mcnamara, V, J, Frischer, H, Stockert, A, T, Carson, E, P, Powell, D, R. Gametocytocidal and sporontocidal effects of primaquine and sulfadiazine with pyrimethamine in a chloroquine-resistant strain of *Plasmodium falciparum*. *Bull Org Mond Santé*. 1968, 38 : 625-32.
- Ringwald, P, Bickii, Basco, L, K. Amodiaquine as the first-line treatment of malaria in Yaoundé, Cameroun: Presumptive evidence from activity in vitro and cross-resistance patterns. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 1998, 92 : 212-3.
- Robert, V, Molez, J, F, Trape, J, F. Short report: 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: 350-1.
- Robert, V, Trape J, F. Dynamiques de la gamétocytémie à *Plasmodium falciparum* en fonction de la réponse thérapeutique à la chloroquine en zone de mésoendémie palustre. *Bull Soc Path Ex*. 1997, 91 : 142-5.
- Rosario, V, E, D, Vaughan, A, Murphy, M, Harrod, V, Coleman, R. Effects of chloroquine on the sporogonic cycle of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium berghei* in anopheline mosquitoes. *Acta Leidensia*. 1988, 57: 53-60.
- Sansonetti, P, J, Le Bras, J, Verdier, F, Charmot, G, Lapresle. Chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* in Cameroon. *Lancet*. 1985 : 1154-5.
- Sinden, R, E. Sexual development of malaria parasites. *Adv Parasit*. 1983, 22 : 153-215.
- Smalley, M, E. *Plasmodium falciparum* gametocytes : the effect of chloroquine on their development. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 1977, 71: 526-9.
- Smalley, M, E, Sinden, R, E. *Plasmodium falciparum* gametocytes : their longevity and infectivity. *Parasitology*. 1977, 74 : 1-8.
- Strickland, T, G, Fox, E, Sarwar, M, Khaliq, A, A, Macdonald, M. Effects of chloroquine, amodiaquine and pyriméthamine-sulfadoxine on *Plasmodium falciparum* gametocytemia. *Am Jnl Trop Med Hyg*. 1986, 35 : 259-62.
- Wensdorfer, J, P. Gametocytogenesis. In : *Malaria, principles and practice of malariology*. Ed. Churchill Livingstone, Ediburg London Melbourne and New-York. 1988, 1 : 331-48.
- Wilkinson, R, N, Noeypatimanondh, S, Gould, D, J. Infectivity of *falciparum* malaria patients for anopheline mosquitoes before and after chloroquine treatment. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 1976, 70 : 306-7.

