

## Article original

# SURVEILLANCE *IN VIVO* DE LA SENSIBILITE DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* AUX ANTIMALARARIQUES DANS LES ETATS DU "RESEAU PALUDISME OCEAC" : RESULTATS DES ENQUETES EFFECTUEES A YAOUNDE (CAMEROUN), MALABO (GUINEE EQUATORIALE) ET BRAZZAVILLE (CONGO).

CHAMBON R<sup>1</sup>, BOUDIN C<sup>2</sup>, LEMARDELEY P<sup>1</sup>, OBATE ZO'O<sup>3</sup>, NDZINGA OBONA<sup>4</sup>, FOUOSSONG B<sup>5</sup>, MOUDZEOU H<sup>6</sup>, LOUYA GP<sup>1</sup>, SAKAZEBI P<sup>1</sup>, NDOUNGA M<sup>1</sup>, OKO OSSOH J<sup>1</sup>, NGUEMA M<sup>1</sup>, EDONNSUE M<sup>1</sup>, FOUMANE V<sup>1</sup>, CHANDENIER P<sup>1</sup>

### RESUME

Le test *in vivo* simplifié et standardisé du Réseau Paludisme OCEAC a été réalisé en mai et juin 1996 dans des groupes scolaires de la périphérie de Yaoundé, Malabo et Brazzaville. Après administration, sur trois jours, de chloroquine à la dose de 25 mg/kg ou d'amodiaquine à 30 ou 35mg/kg, on note des taux de résistance *in vivo* de 19 à 25 % pour la chloroquine et de 13 à 43 % pour l'amodiaquine. Dans chaque pays, les taux de résistance *in vivo* observés dans l'échantillon ne sont pas significativement différents l'un de l'autre pour ces deux médicaments. Globalement, ces taux sont comparables à ceux observés lors d'études antérieures dans des populations similaires.

**Mots clés:** Chimiosensibilité, paludisme, chloroquine, amodiaquine, test *in vivo*, Cameroun, Guinée Équatoriale, Congo.

### INTRODUCTION

A la suite du séminaire atelier réunissant les représentants des états membres de l'OCEAC, en avril 1996, le Réseau Paludisme OCEAC a décidé la mise en place d'un réseau de surveillance de la chimiosensibilité *in vivo* de *Plasmodium falciparum* utilisant une méthode standardisée (Chandenier *et al.*, 1997). Nous présentons ici les résultats des premiers tests réalisés au Cameroun, en Guinée Équatoriale et au Congo à l'aide de cette méthode.

1. Observatoire Régional de la Santé - OCEAC - BP 288 Yaoundé - Cameroun.
2. Laboratoire de Recherche sur le Paludisme - OCEAC - BP 288 Yaoundé - Cameroun.
3. Service de la Médecine Communautaire - Ministère de la Santé - République du Cameroun.
4. Service de la Médecine Communautaire - Ministère de la Santé - République du Congo.
5. Ministerio de Sanidad y Medico Ambiente - République de Guinée Equatoriale.
6. Direction Scientifique et Technique - OCEAC - BP 288 Yaoundé - Cameroun

40



### MATERIEL ET METHODE

Ces enquêtes ont été réalisées du 06 au 13 mai 1996 dans deux écoles de Yaoundé (Ekounou et Mvan), du 02 au 14 juin dans quatre écoles de Malabo (Claret, Los Angeles, Enrique Nvo et Virgen Maria Africa), du 10 au 17 juin dans deux écoles de Brazzaville (Liberté et Ngambio). Grâce à la participation active de tout le personnel des Programmes Nationaux et de missionnaires de l'OCEAC à cette première enquête, la surveillance de la chimiosensibilité a pu intéresser deux médicaments en traitement de trois jours : la chloroquine à la dose de 25mg/kg et l'amodiaquine, à 35 mg/kg à Yaoundé puis à 30mg/kg à Malabo et Brazzaville. Compte tenu des études antérieures les plus récentes (Louis *et al.*, 1992 ; Chambon *et al.*, 1994 ; Chandenier *et al.*, 1995), les taux de résistance à ces médicaments pouvaient être estimés autour de 15%, et la proportion de porteurs d'une parasitémie supérieure ou égale à 100 parasites pour 1000 globules blancs autour de 20%. Le nombre minimum de sujets nécessaires pour l'étude

Bull linis doc OCEAC 1997 ; 30(1)

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote : Bv 9568 Ex : 1

PM 253

de chaque molécule selon la méthode standardisée était donc de 255. D'un point de vue pratique, le médicament était tiré au sort pour le premier enfant vu, et les enfants suivants recevaient alternativement l'un ou l'autre produit.

## RESULTATS

Au Cameroun, six classes, soit 576 enfants, ont participé au test. Le sex-ratio était de 0,85. L'âge moyen était de 7,5 ans et le poids moyen de 22 kilogrammes. Sur ces 576 gouttes épaisses réalisées à J0, 300 (52%) étaient positives pour *Plasmodium falciparum* et 112 enfants présentaient des parasitémies supérieures ou égales à 100 parasites pour 1000 globules blancs (19,4% des enfants prélevés). Lors de l'étude, 30 enfants initialement inclus n'ont pas reçu un traitement complet étant absents à J1 et/ou J2. Ils étaient alors exclus de l'étude. Au total, 78 enfants, soit 70% des enfants présentant initialement les critères parasitologiques d'inclusion, ont à la fois reçu un traitement sur 3 jours consécutifs et ont été prélevés à J7. Les résultats sont présentés dans le tableau I.

En Guinée Équatoriale, 629 enfants ont participé à l'enquête. Le sex-ratio était de 1,2. L'âge moyen était de 7,4 ans et le poids moyen de 21,5 kilogrammes. Trente cinq pour cent des enfants étaient scolarisés en maternelle (Prescolar), 61% en CP (curso 1) et 4% en CE1 (curso 2). Ces 25 enfants de CE1 provenaient tous d'une même école. Tous les prélèvements effectués à J0 ont été lus et 84 enfants présentaient des parasitémies à *Plasmodium falciparum* supérieures ou égales à 100 parasites pour 1000 globules blancs (13,4% des prélèvements effectués). Lors de l'étude plusieurs enfants présents à J0 ont refusé le prélèvement ou n'ont pas reçu un traitement complet étant absents à J1 et/ou J2. Ils ont été alors exclus de l'étude. Au total pour la population étudiée, 52 enfants présentant initialement les critères parasitologiques d'inclusion ont reçu un traitement complet (60%). Quarante pour cent ont dû être exclus pour n'avoir pas été traités pendant les trois jours consécutifs. Les résultats sont présentés dans le tableau II.

Au Congo, 599 enfants ont participé à l'enquête, 274 pour l'école «Liberté» et 325 pour l'école «Ngambio». Le sex-ratio était de 0,96, l'âge moyen des enfants de 6,7 ans et leur poids moyen de 19,5 kilogrammes. Des enfants ont été exclus de l'étude. Il s'agissait : à J0 du

refus de participation d'un enfant, à J1, de 120 enfants absents dont 98 enfants de l'école Liberté n'ayant pas classe ce jour et à J2, de 86 nouveaux enfants absents (14%), 43 appartenaient à l'école Liberté et 43 à l'école Ngambio. Au total 392 enfants ont reçu un traitement sur trois jours consécutifs. Parmi ceux-ci 68 (17%) étaient porteurs de *Plasmodium falciparum* à une densité supérieure ou égale à 100 parasites pour 1000 globules blancs. 5 étaient absents au prélèvement de J7 et 20 résultats étaient toujours positifs à ce prélèvement. Les résultats sont présentés dans le tableau III.

## DISCUSSION

Dans le cadre de l'étude de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* dans ces trois pays d'Afrique Centrale, de nombreux tests *in vivo* ont été réalisés de 1985 à 1991, intéressant les amino-4-quinoléines, mais également la quinine, la méfloquine, le Fansidar® ou le Fansimef® (Louis *et al.*, 1992). Des résultats récents concernant les amino-4-quinoléines sont disponibles :

- au Cameroun, entre 1993 et 1995, des études dans différentes populations ont montré que les résistances variaient selon le lieu de 2,5% à 25% pour la chloroquine et de 0% à 2,1% pour l'amodiaquine (Louis *et al.*, 1994 ; Louis *et al.*, 1995). En avril 1994, en particulier, un test *in vivo* utilisant la chloroquine ou l'amodiaquine à la dose de 25 mg/kg répartis sur 3 jours a été réalisé dans l'école d'Ekounou où nous avons réalisé la présente enquête. Tous les enfants présentant une goutte épaisse positive à J0 étaient prélevés à J3 et J7. La résistance au médicament était analysée sans tenir compte de la parasitémie initiale. Les taux de résistance observés à J7 étaient de 10% pour la chloroquine et de 2,5% pour l'amodiaquine (Chambon *et al.*, 1994). Par ailleurs, les tests réalisés sur un échantillon de 40 enfants malades consultant au dispensaire catholique de Nkoleton (Yaoundé) ont montré, pour cette population et pour des prises thérapeutiques de 25mg/kg de chloroquine, des échecs parasitologiques de 35,4% à J7 et de 50% à J14. Ces enfants présentaient à l'inclusion une parasitémie supérieure à 1000 *Plasmodium falciparum* par mm<sup>3</sup> NS = différence non statistiquement significative et une absence de chloroquinurie (Ringwald, résultats non publiés).

- En Guinée Équatoriale, des études réalisées par Roche *et al.* (1995) avaient montré sur des enfants de moins de 14 ans venant consulter à l'hôpital de

Tableau I

Résultats du test *in vivo* dans deux écoles de Yaoundé (mai 1996)

	Chloroquine (25 mg/kg sur 3 jours)	Amodiaquine (35 mg/kg sur 3 jours)	Total	Comparaison des deux groupes
Nbre d'enfants participant au test	285	291	576	
Sex-ratio	0,83	0,87		
Age moyen en années	7,46 ± 0,18	7,48 ± 0,19		NS
Poids moyen en kilogrammes	21,85 ± 0,56	21,83 ± 0,55		NS
Nbre d'enfants inclus à J0 (%) ( <i>Plasmodium falciparum</i> ≥ 100/1000 GB)	51 (17,9%)	61 (21%)	112	chi2 NS
Nbre d'enfants inclus à J0 et complètement traités	40 (78,4%)	38 (62,3%)	78	chi2 NS
Nbre d'enfants exclus en cours d'étude (non complètement traités)	11 (21,6%)	19 (31,1%)	30	chi2 NS
Nbre d'enfants absents à J7 (perdus de vue complètement traités)	0	4 (6,6%)	4	Fischer NS
Nbre d'enfants parasités à J7	10	5	15	chi2 NS
Pourcentage d'enfants parasités à J7	25% (11%-39%)	13% (2%-24%)		

NS = différence non statistiquement significative

Tableau II

Résultats du test *in vivo* dans quatre écoles de Malabo (juin 1996)

	Chloroquine (25 mg/kg sur 3 jours)	Amodiaquine (30 mg/kg sur 3 jours)	Total	Comparaison des deux groupes
Nbre d'enfants participant au test	316	310	626	
Sex-ratio	1,07	1,35		
Age moyen en années	7,4 (1,5)	7,5 (1,6)		NS
Poids moyen en kilogrammes	21,4 (3,6)	21,7 (4,1)		NS
Nbre d'enfants inclus à J0 (%) ( <i>Plasmodium falciparum</i> ≥ 100/1000 GB)	51 (16,1%)	33 (10,6%)	84	chi2 p=0,04
Nbre d'enfants inclus à J0 et complètement traités	33 (64,7%)	19 (57,6%)	52	chi2 NS
Nbre d'enfants exclus en cours d'étude (non complètement traités)	18 (35,3%)	14 (42,4%)	32	chi2 NS
Nbre d'enfants absents à J7 (perdus de vue complètement traités)	7 (13,7%)	1 (3,1%)	8	Fischer NS
Nbre d'enfants parasités à J7	5	2	7	
Pourcentage d'enfants parasités à J7	19%	11%		chi2 NS

Bioco que la goutte épaisse était positive chez 79% d'entre eux, 58% ayant une parasitémie supérieure à 1000 trophozoïtes par mm<sup>3</sup>. En 1991 les taux de résistance *in vivo* à la chloroquine prise à la dose de 25mg/kg sur 3 jours était, dans cette population de consultants, de 23,4 ± 12,4% sur 7 jours. D'autres tests réalisés sur les mêmes populations en 1992 et 1993 (n<sub>92</sub> = 64 et n<sub>93</sub> = 124) montraient après traitement

par 35 mg de chloroquine sur 3 jours des taux de résistance toujours très importants de 40,6 ± 12,2% et de 48,8 ± 8,9% avec des résistance RI respectivement de 17% et 28%. Dans le même temps la résistance *in vivo* à l'amodiaquine prescrite à la dose de 25 mg/kg semblait moins importante et était au quatorzième jour de 26,2 ± 13,5% en 1991 (n= 42) et de 23,6 ± 9,4% en 1992 (n=82). Ces observations avaient conduit à

Tableau III

Résultats du test *in vivo* dans deux écoles de Brazzaville (juin 1996)

	Chloroquine (25 mg/kg sur 3 jours)	Amodiaquine (30 mg/kg sur 3 jours)	Total	Comparaison des deux groupes
Nombre d'enfants examinés	300	299	599	
Sex-ratio	0,92	1		NS
Age moyen en années (écart type)	6,8 (0,82)	6,7 (0,79)		NS
Poids moyen en kilogrammes (écart type)	19,4 (2,86)	19,5 (2,86)		NS
Enfants ayant reçu un traitement de 3 jours consécutifs	205 (68%)	187 (63%)	392	chi2 NS
Nbre d'enfants complètement traités et présentant à J0 une parasitémie $\geq$ 100/1000 GR	37 (18%)	31 (16,6%)	68	
Nbre d'enfants inclus à J0 complètement traités et prélevés à J7	35	28	63	
Nbre d'enfants inclus à J0 complètement traités et parasités à J7	8	12	20	
Pourcentage d'enfants parasités à J7	23% $\pm$ 14%	43% $\pm$ 18,7%		NS

NS = différence non statistiquement significative

l'abandon par la Guinée Équatoriale de la chloroquine comme médicament de première ligne dans le traitement du paludisme. Par contre des résultats rapportés par Louis et *al.* en 1992 indiquaient une bonne efficacité de la chloroquine chez les sujets asymptomatiques de Bioco en 1990-91, avec un pourcentage de résistance de 14% parmi 267 sujets testés.

- Au Congo, une étude *in vivo* menée à Brazzaville en 1993 par plusieurs d'entre nous avec une méthodologie proche de celle utilisée à présent à l'OCEAC indiquait un taux de 14% de chloroquinorésistance (Chandenier et *al.*, 1995). Ce chiffre était comparable à ceux obtenus lors des études antérieures réalisées sur le même site. Pour l'amodiaquine, les chiffres recueillis de 1985 à 1989 par Carme et *al.* (1990) indiquaient des taux de résistance à Brazzaville de 26% en 1985 et de 21% en 1986. Une enquête plus récente réalisée en 1990, par les mêmes auteurs, fixait ce taux à 6% (Carme et *al.*, 1991).

Pour ce qui est de nos résultats, l'analyse des tableaux I à III nous permet de constater que les deux groupes d'étude concernant chaque médicament sont à chaque fois comparables pour l'âge, le poids et le nombre d'exclus en cours d'étude. Au Cameroun, quatre enfants bons pour l'étude étaient absents pour le prélèvement de J7. Ces 4 enfants avaient reçu un traitement à l'amodiaquine. Notons que l'utilisation de l'amodiaquine à la dose de 15mg/kg le premier jour en une seule prise a sans doute été à l'origine

d'effets secondaires chez ces enfants âgés de 5 à 10 ans. En effet, les études antérieurement réalisées, utilisant l'amodiaquine à 25mg/kg (10,10,5) ou à 35mg/kg (avec prise fractionnée de 15mg le premier jour) montraient que ce médicament avait une efficacité significativement supérieure à celle de la chloroquine. Dans notre étude, cette différence entre ces deux molécules n'est pas retrouvée. Ce résultat pourrait en partie s'expliquer par une tolérance moins bonne à l'amodiaquine. En effet, certaines enseignantes des écoles camerounaises ont signalé l'apparition d'asthénie importante et de vomissements chez certains enfants ayant reçu un traitement à l'amodiaquine. L'analyse des données sur les absences à J1, J2 et J7 montraient que celles-ci étaient de 21,6% dans le groupe traité à la chloroquine et de 37,7% dans le groupe traité à l'amodiaquine. Cette différence n'est pas significative ( $p=0,06$ ) mais une augmentation de l'effectif l'aurait peut-être rendue significative. Cette analyse des résultats de l'enquête du Cameroun a conduit à l'adoption, pour les enquêtes ultérieures en Guinée et au Congo, de la posologie de 30 mg/kg pour l'amodiaquine. Dans les trois pays, les chiffres de chimio-résistance obtenus pour les deux molécules restent globalement comparables à ceux cités ci-dessus, observés ces dernières années dans des populations similaires. Bien que les méthodologies ne soient pas tout à fait similaires, ils semblent confirmer la notion de stabilité de

ce phénomène observé en Afrique Centrale (Guéret *et al.*, 1992; Louis *et al.*, 1992b, Basco *et al.*, 1993; Mulder *et al.*, 1994 ; Chandénier *et al.*, 1995). Seul le taux important de résistance à l'amodiaquine à Brazzaville est surprenant et la réalisation de nouveaux tests en 1997 pourra peut-être apporter des éléments de réponse. Enfin, ces études montrent, s'il en était encore besoin, l'importance d'une bonne préparation et d'une sensibilisation préalable correctement menée. En effet, alors que le nombre d'inclus à J0 était conforme aux prévisions, les nombres d'enfants retenus pour l'étude de chaque médicament ont été inférieurs à ceux attendus et la proportion d'exclus en cours d'étude et de perdus de vue a atteint dans certains sites près de 50% de la population initiale.

### CONCLUSION

Tous ces résultats montrent la nécessité de suivre en Afrique Centrale la situation de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* aux antimalariques de première intention tels que les amino-4-quinoléines, mais aussi la difficultés d'interpréter cette situation quand les méthodes de suivi sont trop différentes. Un test simplifié comme celui retenu par les membres du «Réseau Paludisme OCEAC» peut permettre d'obtenir régulièrement et de façon standardisée des résultats chiffrés avec précision. Comparés entre eux, ils seront un reflet fidèle de l'évolution de cette chimiosensibilité.

### Remerciements

*Les auteurs remercient vivement pour leur accueil et compréhension les directrices et directeurs des groupes scolaires visités, ainsi que les enseignants des classes étudiées pour leur précieux concours et leur aimable participation.*

### BIBLIOGRAPHIE

- 1- Basco L, Ringwald P, Simon F, Doury J C, Le Bras J. Evolution of chloroquine resistance in Central and West Africa. *Trop Med Parasitol* 1993 ; 44 : 111-2.
- 2- Carme B, Moudzeo H, Mbisi A, Sathoukazi C, Ndounga M, Brandicourt O, Gay F, Le Bras J. La résistance médicamenteuse de *P. falciparum* au Congo. Bilan des enquêtes réalisées de 1985 à 1989. *Bull Soc Path Ex* 1990 ; 83 : 228-41.

- 3- Carme B, Moudzeo H, Mbisi A, Ndounga M, Samba G. Stabilization of drug resistance (chloroquine and amodiaquine) of *P. falciparum* in the semi-immune populations in the Congo. *J Inf Diseases* 1991 ; 164 : 437-8.
- 4- Chambon R, Louis FJ, Lescieux A, Ringwald P, Nyolo B, Mooh E, Foumane V. Sensibilité *in vivo* aux amino-4-quinoléines des isolats de *Plasmodium falciparum* à Yaoundé, département du Mfoundi, province du Centre, Cameroun (avril 1994). *Doc Tech OCEAC n° 878/OCEAC/LRP* juillet 1994.
- 5- Chandénier J, Chambon R, Ringwald P, Lemardeley P, Boudin C. Surveillance *in vivo* de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* aux antimalariques. Présentation méthodologique du test du "Réseau Paludisme OCEAC". *Bull liais doc OCEAC* 1997 ; 30(1) : 15-8.
- 6- Chandénier J, Ndounga M, Carme B, Gay F, Mbisi A, Hayette M P, Stanghellini A, Oko Ossoh J, Baudon D, Cuddy Zitsamélé R. Chimiosensibilité *in vitro* et *in vivo* de *Plasmodium falciparum* au Congo. *Cahiers Santé*. 1995 ; 5 : 25-9.
- 7- Guéret D, Migot F, Ringwald P, Thibaut P, Le Bras J. Stabilité de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine entre 1987 et 1989 à Mounana, Gabon. *Bull WHO* 1992 ; 70 : 621-4.
- 8- Louis FJ, Ringwald P, Chambon R. Surveillance épidémiologique de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine au Cameroun: Nécessité d'une adaptation des politiques de Santé Publique. *Med Trop* 1995 ; 55 : 77S-79S.
- 9- Louis FJ, 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, 3 : 119-120.
- 10- Louis JP, Louis FJ, Trebucq A, Migliani R, Hengy C. Intérêt d'une surveillance de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* aux antimalariques en Afrique Centrale. *Bull liais doc OCEAC* 1992c ; 25(4) : 27-36.
- 11- Mulder B, Ringwald P, Arens T, Louis F. Stabilization of chloroquine resistance *in vivo* of *Plasmodium falciparum* in Edea, south Cameroon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994 ; 88 : 445.
- 12- Roche J, Ayecaba S, Benito A, Molona R, Alvar J. Evaluation *in vivo* de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* en Guinée Equatoriale 1991-1993. *Bull liais doc OCEAC* 1995 ; 28(2) : 73-8.