

CHIMIOPROPHYLAXIE CONTINUE ET RESISTANCE DE *P. FALCIPARUM* A LA CHLOROQUINE EN MILIEU RURAL AU MALI

SANGHO H¹, SOW S², DIALLO M³, SACKO M⁴, DIAWARA A⁵, SANGO H.A⁶, DOLO A³, DOUMBO O³.

¹Centre de recherche d'étude et de documentation pour la survie de l'enfant (CREDOS)
BP 2109 Bamako, Mali.

²Centre national d'appui à la lutte contre la maladie (CNAM), Bamako

³Département d'épidémiologie des affections parasitaires (DEAP), Bamako BP 1805

⁴Organisation Mondiale de la santé/ Représentation de Bamako

⁵Direction de la pharmacie et du médicament, Bamako

⁶Faculté de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie (FMPOS), Bamako BP 1805.

Auteur correspondant : Dr Hamadou SANGHO, Assistant chef de clinique, Centre de Recherche d'Etude et de Documentation pour la Survie de l'Enfant (CREDOS) BP 2109 Bamako, Mali.

RESUME

Nous avons entrepris une étude sur le paludisme dans le village de Faladié où la chloroquinisation systématique était pratiquée chez les enfants depuis plus de 20 ans. Le but de l'étude était de déterminer la prévalence du paludisme et de l'anémie chez les enfants, les taux d'échecs thérapeutiques et de résistance parasitologique. Pour l'étude transversale de prévalence 650 enfants ont été inclus alors que 40 d'entre eux ont participé au test de sensibilité *in vivo* à la chloroquine (test de 14 jours de l'OMS, 1996).

L'indice plasmodique était de 61,7%. *Plasmodium falciparum* représentait 95,6% des résultats de goutte épaisse. La chimio prophylaxie à la chloroquine était pratiquée chez 74,5% des enfants enquêtés, mais l'indice plasmodique ne variait pas significativement en fonction de cette chimio prophylaxie ($p=0,46$). Les échecs thérapeutiques et la résistance parasitologique (test *in vivo* de l'OMS) étaient respectivement de 30% et 80%. Nous avons conclu que la chimio prophylaxie continue à la chloroquine a favorisé la chimiorésistance et augmenté l'anémie palustre chez les enfants porteurs de *P. falciparum*. Nous avons proposé l'arrêt immédiat de la chimio prophylaxie et du traitement curatif à la chloroquine ainsi que la supervision régulière du personnel sanitaire.

MOTS CLES: Paludisme, enfant, chimio prophylaxie, résistance, zone rurale, Mali.

CONTINUOUS CHEMOPROPHYLAXIS AND *PLASMODIUM FALCIPARUM* RESISTANCE TO CHLOROQUINE IN RURAL AREA IN MALI

We have undertaken a study on malaria drug resistance in the village of Faladié (district of Kati, Mali), where systematic chloroquinisation has been in use for more than 20 years with children. In October 2000, we carried out a study to determine the prevalence of malaria in children, the rates of therapeutic failure and parasitologic resistance on malaria. A total of 650 children were enrolled in the cross sectional survey and 40 of them were followed for the *in vivo* chloroquin-resistance screening. The plasmodial index found in our study was 61,7%. During this study, we observed that the *plasmodium falciparum* is the most frequent species with 95.62 % of species found. In this village, where chemoprophylaxis has been in practice, we found its use in 74,5% of children.

The study *in vivo* of chemo sensitivity according to the protocol of 14 days of WHO used in our study in Faladié, has allowed to find rates of therapeutic failure of 30% and a parasitologic resistance of 80%. We concluded that continuous chemoprophylaxis to the chloroquine favors chemoresistance in children of *P. falciparum*. We proposed an immediate stop of chemoprophylaxis and curative treatment with chloroquine, and the follow up of the medical staff.

KEY WORDS : Malaria, children, Chemoprophylaxis, Chemoresistance, rural area, Mali.

SUMMARY

INTRODUCTION

Le paludisme à *Plasmodium falciparum* est la principale cause de maladie et de décès parmi les enfants et les femmes enceintes, en Afrique au sud du Sahara [1].

En septembre 1986, l'Organisation Mondiale de la Santé a recommandé la chimio prophylaxie des femmes enceintes à raison de 300 mg de chloroquine par semaine pendant toute la durée de la grossesse (AFRO / RC36 / 22). L'OMS ne recommande plus la chloroquinisation systématique chez les enfants de 0 à 5 ans et les nouveau-nés à cause non seulement du retard dans l'acquisition de la

prémunition, de la difficulté de son application correcte et efficace, mais aussi

de l'extension de la résistance par pression médicamenteuse. Il faut noter que malgré les recommandations de l'O.M.S, nous avons identifié au Mali une zone (Faladié) où cette chimio prophylaxie est encore pratiquée de façon systématique depuis plus de 20 ans dans tous les villages chez les enfants de 0 à 9 ans, par les sœurs de la mission catholique. Cette chloroquinisation était faite de façon régulière pendant la période de transmission palustre (juin à novembre) à raison de 75 mg/semaine jusqu'à l'âge de 6 mois, 200 mg/semaine entre 2 et 4 ans et enfin 300mg/semaine à partir de 4 ans. L'approvisionnement en

chloroquine se faisait à partir du dispensaire de Faladié. Une infirmière détenait des cahiers où étaient recensés tous les enfants concernés. Les populations contribuaient à raison de 300 FCFA (0,46 euro) pour les activités de chloroquinisation. Celle-ci était intégrée à la vaccination pour les enfants de moins de 2 ans. Une mission de pré-enquête a démontré que : 36 % des consultations effectuées de janvier à août 2000 au dispensaire de FALADIE seraient des cas de paludisme ; 2,4 % des consultations du dispensaire seraient des anémies graves ayant fait l'objet d'une transfusion. Les prévalences élevées du paludisme et de l'anémie ne seraient-elles pas liées à une résistance de *P. falciparum* à la chloroquine consécutive à la chimio prophylaxie ? Notre travail visait à étudier le rôle de la chimio prophylaxie à la chloroquine dans l'extension des souches de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine et de l'anémie palustre chez les enfants de 0 à 9 ans dans le village de Faladié.

METHODOLOGIE

Cadre de l'étude

Le village de Faladié est situé en zone soudanienne à 80 Km au nord de la ville de Bamako. La saison de pluies dure 5 mois : juin à novembre (avec une pluviométrie de 1000 mm par an) et correspond à la période de haute transmission palustre. La population du village était estimée à 2713 (recensement 2000) dont 991 enfants âgés de 0 à 9 ans. Le système de santé comprenait un seul dispensaire confessionnel. Le personnel était composé de 3 infirmières, 10 aides soignants et 3 matrones.

Période de l'étude

L'étude s'est déroulée au mois d'octobre 2000, pendant la saison de transmission.

Type d'étude

Nous avons mené deux types d'étude :

une enquête transversale pour évaluer les paramètres cliniques et biologiques du paludisme chez les enfants de 0 à 9 ans d'une part ;

une étude de cohorte sur la chimiosensibilité in vivo à la chloroquine chez les enfants de 6 mois à 9 ans pour déterminer les niveaux des échecs thérapeutiques, ayant comme critères d'inclusion : les formes simples de paludisme, la densité parasitaire (par goutte épaisse) supérieure à 1000 hématies parasitées/mm³ ; et comme critères d'exclusion : le paludisme grave, les vomissements, les antécédents d'œdème de Quincke et de prurit à la chloroquine et la tuberculose.

Description du protocole du test in vivo utilisé

Nous avons utilisé le protocole standard de l'OMS de 14 jours qui consiste à administrer une dose curative de chloroquine à raison de 25 mg/kg répartis en 3 doses : 10 mg/kg à J0, 10 mg/kg à J1 et 5 mg/kg à J2. La température et la parasitémie étaient ensuite suivies pendant 14 jours avec contrôle à J0, J3, J7 et J14. Le taux d'hématocrite était mesuré à J0, J7 et J14. Les cas d'échec thérapeutique ont été traités par de la sulfadoxine-pyriméthamine en prise unique.

Définitions opératoires

Paludisme maladie : Il est défini comme une fièvre supérieure ou égale 37,5°C et une parasitémie supérieure ou égale à 1000 hématies parasitées par millimètre cube de sang.

L'anémie : est définie comme un taux d'hématocrite inférieur à 30% selon l'OMS.

- Échec thérapeutique précoce (ETP) : Il est défini après une prise supervisée de chloroquine pendant trois jours par : une fièvre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ à J2 avec une parasitémie $>$ à celle de J0 ; ou une Parasitémie de J3 supérieure ou égale à 25% de celle de J0 .

- Échec thérapeutique tardif (ETT) : présence d'une parasitémie entre J4 et J14 sans que le malade ait répondu auparavant aux critères de l'ETP.

- Taux d'échec thérapeutique : Somme de (ETP + ETT) / Nombre d'enfants suivis du 1^{er} au 14^{ème} jour x 100

- Réponse clinique satisfaisante (RCS) : absence de parasitémie à J14 quelle que soit la température axillaire sans que le malade ait auparavant répondu aux critères de ETP ou de ETT.

- Résistance type R3 : Parasitémie à J3 supérieure ou égale à 25% de la parasitémie à J0 et à J7

- Résistance type R2 : Parasitémie à J3 inférieure à 25% de la parasitémie à J0 et à J7

- Résistance type R1 : Parasitémie à J3 inférieure à 25% de la parasitémie à J0, négative à J7 puis réapparaît à J14

- Sensible : Parasitémie négative à J7 et ne réapparaît plus.

Traitement des données

La lecture des lames de goutte épaisse a été faite grâce au microscope optique électrique avec un objectif 100 à l'immersion. Pour la mesure de l'hématocrite, nous avons utilisé l'abaque pour la lecture des prélèvements de sang dans les tubes capillaires héparinés. L'analyse des données a été faite au logiciel Epi Info version 6.04. Le test du χ^2 a été utilisé pour comparer les variables qualitatives. L'Odds ratio a aussi été utilisé pour estimer le risque lié aux différents événements. Un risque Alpha de 0,05% a été choisi.

RESULTATS

Au cours de l'enquête transversale, notre échantillon comprenait 655 enfants âgés de 0 à 9 ans dont 51,2% garçons et 48,8% filles, soit un sexe ratio de 1,05. L'indice plasmodique (IP) était de 61,7% (404/655). La fomme parasitaire était dominée par *P. falciparum* qui représentait 95,6% des espèces plasmodiales rencontrées. *P. malariae* (3,6%) et *P. ovale* (0,8%) étaient rarement retrouvés. La prévalence du paludisme maladie était de 8,5%. La fréquence des accès palustres était de 13%. L'indice splénique était de 16,8% (110/655). La chloroquine était utilisée de façon régulière en chimio prophylaxie antipalustre par 74,5% (488/655) des enfants âgés de 0 à 9 ans. Mais en dépit de cette pratique, l'indice plasmodique des enfants soumis à la chimio prophylaxie (à la chloroquine) était comparable à celui des enfants qui n'y étaient pas ($p=0,46$ ~ tableau I).

Tableau I : Répartition des enfants selon la pratique de la chimio prophylaxie et la présence de P. falciparum dans le sang à Faladié en octobre 2000.

IP	Chimio prophylaxie	n (%)	GE +	n (%)	GE -	n (%)	Total
OUI	297	(60,9)	191	(39,1)			488 (100)
NON	107	(64,1)	60	(35,9)			167 (100)
Total	404	251			655		

$$\chi^2=1,90 ; p=0,16 \quad \text{OR} = 0,75 \quad 0,50 < \text{OR} < 1,13$$

La fréquence du prurit lié à la prise de la chloroquine était de 18% (70/394). La prévalence de l'anémie était de 25,2%

(165/655). L'anémie était plus fréquente chez les enfants âgés de moins de 60 mois ($\chi^2=54,06$; $p<0,001$). La prévalence de l'anémie était significativement plus élevée chez les enfants parasités que chez les enfants non parasités ($p=0,01$ ~ tableau II).

Tableau II: Répartition des enfants selon l'IP et le taux d'hématocrite à Faladié en octobre 2000.

Anémie IP	HT<30%		HT>30%		Total	
	n	(%)	n	%	N	(%)
GE +	115	(29,6)	273	(70,4)	388	(100)
GE -	50	(19,2)	210	(80,8)	260	(100)
Total	165		483		650	

$\chi^2=5,26$; $p=0,02$ OR= 1,56 1,06<OR<2,28

Les porteurs de *P. falciparum* étaient 1,56 fois plus exposés à l'anémie que ceux non infectés (OR=1,60 ; IC=1,10-2,33). Le test in vivo de l'OMS (1996) a porté sur 40 enfants parmi lesquels 47,5% étaient des garçons et 52,5% des filles. Le taux d'échec thérapeutique global (ETP et ETT) était de 30% (12/40) dont 17,5% d'ETP et 12,5% d'ETT (tableau III).

Tableau III: Répartition des enfants selon les réponses clinique et parasitologique à Faladié en octobre 2000.

Réponse clinique	n	%
réponse clinique adéquate	28	70
échec thérapeutique précoce	7	17,5
échec thérapeutique tardif	5	12,5
Total	40	100
Réponse parasitologique		
sensible	8	20
résistance de type I	20	50
résistance de type II	7	17,5
résistance de type III	5	12,5
Total	40	100

La résistance parasitologique (R1, R2 et R3) était de 80% (32/40) dont 50% de R1 ; 17,5% de R2 et 12,5% de R3. La fréquence de l'anémie était significativement plus élevée chez les enfants porteurs de souches résistantes de *P. falciparum* que chez ceux portant des souches sensibles ($\chi^2=6$; $p=0,01$).

DISCUSSION

L'indice plasmodique était de 61,7% chez les enfants de 0 à 9 ans à Faladié. En 1996, un indice plasmodique de 64,6% et une prévalence du paludisme maladie de 6,2% ont été observés dans la même tranche d'âge dans un autre village (Donéguébougou) de même faciès épidémiologique situé à 40 km au sud de Faladié [2]. Pourtant dans ce village suscitait la chimio prophylaxie de masse n'était pas pratiquée [2]. En général, la résistance survient à travers les mutations génétiques spontanées ; ce qui contribue à réduire la sensibilité pour un médicament donné. Certaines études ont confirmé que la pression médicamenteuse, spécialement celle exercée par les programmes utilisant les traitements de masse ont le plus grand impact sur le développement de la résistance [3] [4]. La pression médicamenteuse due à la chimio prophylaxie par la chloroquine entraînerait la mort des plasmodiums sensibles tandis les résistants survivent. Il s'exerce donc une pression sélective sur la circulation des populations de parasite : les plasmodiums résistants

devenant de plus en plus nombreux au dépend des sensibiles.

Chimio-sensibilité

- Le taux d'échec thérapeutique retrouvé dans notre étude était de 30%. Nous avons observé une résistance parasitologique à 80% dont 50% de R1, 17,5% de R2 et 12,5% de R3. Par ailleurs au Mali (districts de Mopti et Bandiagara), où la chloroquine est utilisée en prophylaxie chez les femmes enceintes et en traitement curatif, Djimé et al., ont trouvé un taux de résistance plus faible de 14% dont 11% de type R1, 2% de type R2 et 1% de type R3 [1]. A Donéguébougou en 1996, le taux de résistance global était aussi bas soit 15% [2].
- Le taux élevé de résistance de notre étude est comparable à celui des pays qui connaissent depuis longtemps la chloroquino-résistance. Keuter et al ont retrouvé chez les enfants de moins de 5 ans, en milieu hospitalier au Kenya (1987), 91% de résistance parasitologique avec 36% de Résistance type3. Cependant 69% de réponses cliniques satisfaisantes évaluées à J8 ont été observées [5]. Fowler a trouvé en Tanzanie (1993), 83% de résistance in vivo à la chloroquine dont 46% de Résistance type1, 28% de Résistance type R2 et 9% de Résistance type3 [6]. Okafor H U a retrouvé au Nigeria, une résistance parasitologique similaire de 79% chez les enfants de 0-60 mois [7]. Ekval et al ont trouvé en Tanzanie chez les enfants âgés de 5-36 mois, 20% d' Echec Thérapeutique Précoce et 22% d' Echec Thérapeutique Tardif [8].

Anémie :

Concernant les cas d'anémie, 25,2% des enfants avaient un taux d'hématocrite < 30%. L'anémie en zone d'endémie palustre est surtout liée à la parasitémie comme l'ont montré de nombreuses études réalisées en Afrique [9] [10] [11]. Okafor HU a observé une corrélation négative entre la parasitémie et l'hématocrite ($r = -0,9512$) [7]. L'infection à *Plasmodium falciparum* était la première cause (46%) des cas d'anémie sévère admis dans un hôpital du Kenya. Le taux de mortalité chez les enfants souffrant d'anémie sévère du paludisme était 8,6% comparativement à 3,6% chez les enfants souffrant d'anémie sévère d'autres causes [12]. Dans notre étude la chloroquinorésistance a pu augmenter le risque de survenue d'anémie sévère. Nous n'avons pas pu évaluer la contribution des autres causes d'anémie (ankylostomose, drépanocytose, carences nutritionnelles) ; ce qui pourrait constituer un biais. La prévalence de l'infection à VIH n'est pas connue dans notre zone d'étude. D'après les données existantes (EDS III) pour la région de Koulikoro où est situé Faladié, le taux de séroprévalence en zone rurale est de 1,6% contre 4,5% en zone urbaine [13]. Le traitement des cas d'anémie sévère par la transfusion sanguine pourrait augmenter les risques de transfusion sanguine de VIH et d'hépatite B. Il est difficile de garantir la sécurité transfusionnelle dans ce centre de santé avec peu de personnel qualifié.

CONCLUSION

Notre étude a montré que la résistance de *P. falciparum* dans le village de Faladié (Mali) a été accentuée par la pratique de la chimio prophylaxie continue à la chloroquine avec la participation active du personnel sanitaire. Cette chimiorésistance a augmenté la survenue d'anémie palustre chez les enfants. Nous avons proposé l'arrêt immédiat de la chimio prophylaxie et du traitement curatif à la chloroquine ainsi que la supervision régulière du personnel sanitaire.

REMERCIEMENTS :

Ce travail a été financé par l'OMS et réalisé dans le cadre du XII^e Cours d'épidémiologie appliquée OMS pour cadres supérieurs de la santé (Bamako, juillet à novembre 2000). Nous remercions les docteurs (DIALLO AT, TEKOU T, PARAISO A, GUEYE B, HAKIZAMANA S, NASSOR M, OUMAROU D T, TRAORE B, SIDIBE H, COULIBALY T) participants au XII^e Cours OMS pour avoir réalisé ce travail. Nous remercions l'équipe du DEAP/MRTC de Bamako pour son soutien technique et financier à ce travail, le personnel du centre de santé de Faladié, les facilitateurs, les secrétaires et les chauffeurs qui ont contribué à la réussite de ce travail.

REFERENCES

- 26- DJIMDE A, DOUMBO O, CORTESE JF, *et al.* A molecular marker for chloroquine-résistant falciparum malaria. *N Engl J Med* 2001;344:257-63
- 27- COURS D'ÉPIDÉMIOLOGIE APPLIQUÉE OMS POUR CADRES SUPÉRIEURS DE LA SANTÉ. Morbidité palustre et chimiosensibilité du plasmodium falciparum à la chloroquine dans la population de Donéguébougou. Rapport FMPOS Bamako octobre 1996; 40p.
- 28- PAYNE D. Did medicated salt hasten the spread of chloroquine resistance in Plasmodium falciparum ? *Parasitol Today* 1988;4(4):112-5.
- 29- WERNSDORFER WH. Epidemiology of drug resistance in malaria. *Acta Tropica* 1994;56:143-56.
- 30- KEUTER M, SANDERS J, RONDAY M, *et al.* Parasitological, clinical and haematological response of children with Plasmodium falciparum to 4-aminoquinolines and pyrimethamine-sulfadoxine with quinine in western Kenya. *Trop Geogr Med* 1992 Jan;44(1-2):1-8.
- 31- FOWLER V G, JR LEMNGE M, IRARE SG, *et al.* Efficacy of Chloroquine on plasmodium falciparum transmitted at Amani, eastern Usambara Mountains, north-east Tanzania: an area where malaria has recently become endemic. *J Trop Med Hyg* 1993 Dec;96(6):337-45.
- 32- OKAFOR HU, NWAIWU O. Anemia of persistent malaria parasitemia in Nigerian children. *J Trop Pediatr* 2001 Oct;47(5): 271-5.
- 33- EKVALL H, PREMJI Z, BJORKMEN A. Chloroquine treatment for uncomplicated childhood malaria in an area with drug resistance: early treatment failure aggravates anaemia, Suede. *Trans R Soc trop Med Hyg* 1998 Sept-Oct;92(5):556-60.
- 34- AFOLABI BM, SALAKO LA, MAFE AG, *et al.* Malaria in the first 6 months of life in an urban Africa infants with anemia. *Am J Trop Med Hyg* 2001 Dec;65(6):822-7.
- 35- KORAM KA, OWUSU-AGYEI, UTZ G, *et al.* Severe anemia in young children after high and low malaria transmission seasons in the Kassena-Nankana district of northern Ghana. *Am J Trop Med Hyg* 2000 Jun;62(6):670-4
- 36- HEDBERG K, SHAFFER N, DAVACHI F, *et al.* Plasmodium falciparum associated anemia in children at large urban hospital in Zaire. *Am J Trop Med Hyg* 1993 Mar;48 (3):365-71.
- 37- NEWTON CR, WARN PA, WINSTANLEY PA, *et al.* Severe anemia in children living in a malaria endemic area of Kenya. *Trop Med Int Health* 1997 Feb;2(2):168-78
- 38- MINISTÈRE DE LA SANTÉ. Enquête Démographique et de Santé (EDSM-III) du Mali. Rapport CPS santé Bamako Juin 2002 ; 450p.

