

Prévalence de *Plasmodium falciparum*, de l'anémie et des marqueurs moléculaires de la résistance à la chloroquine et à la sulfadoxine-pyriméthamine chez les femmes accouchées à Fana, Mali

Prevalence of *Plasmodium falciparum*, anemia and molecular markers of chloroquine and sulfadoxine-pyriméthamine resistance in delivered women in Fana, Mali

S. Doumbo · O.A. Ongoiba · D. Doumtabé · A. Dara · T.D. Ouologuem · K. Kayentao · A. Djimé · B. Traoré · O.K. Doumbo

Reçu le 18 octobre 2012; accepté le 11 juin 2013
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2013

Résumé La présente étude avait pour objectif de décrire la morbidité du paludisme et la fréquence des marqueurs moléculaires de résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) et à la chloroquine (CQ) dans une zone d'endémie palustre au Mali. Il s'agissait d'une étude transversale d'observation effectuée de novembre 2005 à janvier 2006. L'étude a porté sur 200 femmes enceintes ayant accouché à la maternité de Fana, parmi lesquelles la classe d'âge des 14–19 ans (28,5 %) prédominait. Au total, 52,3 % (104/200) et 15 % (30/200) des femmes examinées étaient porteuses de *Plasmodium falciparum* respectivement dans le sang périphérique et le placenta. Le taux de prévalence de l'anémie était de 44,5 % (89/200). La fréquence de la mutation *Pfcr* K76T de l'infection due à *P. falciparum* dans le sang périphérique était de 68,8 % (11/16) contre 100 % (16/16) dans le placenta ($p = 0,004$). La mutation DHFR N51I était présente dans 12,5 % (2/16) et 18,8 % (3/16) des cas respectivement dans le sang périphérique et dans le placenta ($p = 0,12$). Quant à la mutation DHPS A437G, elle a été observée avec une fréquence de 25 % (4/16) aussi bien dans le sang périphérique que dans le placenta. En revanche, nous n'avons pas mis en évidence de mutants DHPS K540E et DHFR 164L.

Mots clés Paludisme · Grossesse · Primipares · Morbidité · Anémie · Sang périphérique · Placenta · TIPg-SP ·

Mutations · *Pfcr* · DHPS A437G · DHFR K76T · Fana · Koulikoro · Mali · Afrique intertropicale

Abstract The aim of this study was to describe the malaria morbidity and the frequencies of molecular markers of resistance to chloroquine and sulfadoxine-pyriméthamine in pregnant women at delivery in Mali. Two hundred pregnant women have been included at the delivery clinic in Fana. The age group of 14–19 years was predominant. Fifty two per cent (52.3%: 104/200) were malaria slides positive in their peripheral blood and 15% (30/200) of the women carried parasite in their placenta. The prevalence rate of anemia was 44.5% (89/200). PCR technique was successfully performed on 16 paired samples. The frequency of the *Pfcr* K76T mutants in *Plasmodium falciparum* infections in peripheral blood was 68.8% (11/16) and 100 % (16/16) in the placenta ($p = 0,004$). The frequency in peripheral blood of the DHFR N51I mutation was 12.5% (2/16) and 18.8% (3/16) in the placenta ($p=0,12$). The frequencies of the DHPS A437G mutants were similar in both sites 25% (4/16). No DHPS K540E and DHFR 164L mutations were found in the Fana pregnancy women samples.

Keywords Malaria · Pregnancy · First-child · Morbidity · Anemia · Peripheral blood · Placenta · IPTp-SP · Mutations · *Pfcr* · DHPS A437G · DHFR K76T · Fana · Koulikoro · Mali · Sub-Saharan Africa

S. Doumbo (✉) · O.A. Ongoiba · D. Doumtabé · A. Dara · T.D. Ouologuem · K. Kayentao · A. Djimé · B. Traoré · O.K. Doumbo

Malaria Research and Training Center (MRTC), Mali, Département d'épidémiologie des affections parasitaires (DEAP), Mali, Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie (FMPOS), Mali, Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB), UMI3189, BP 1805, Mali
e-mail : sdoumbo@icermali.org

Introduction

Dans les zones d'endémie palustre, les femmes enceintes payent un lourd tribut au paludisme et plus particulièrement les primipares [2,26]. Au Mali, le nombre de femmes enceintes exposées au risque du paludisme est estimé entre

800 000 et 900 000 grossesses par an [11]. Les conséquences majeures sont le petit poids de naissance du nouveau-né, les accouchements prématurés, les avortements et surtout une anémie sévère et le neuropaludisme chez la mère [20]. Dans les zones de transmission faible et/ou instable, toutes les femmes enceintes peuvent être sujettes à une maladie grave, une anémie sévère et/ou un avortement ; le fœtus a un risque de prématurité, de retard de croissance intra-utérine et surtout de faible poids à la naissance [16,21]. L'OMS recommande depuis les années 2002 l'utilisation systématique de moustiquaires imprégnées d'insecticides (MIIs) et le traitement préventif intermittent pendant la grossesse à la sulfadoxine-pyriméthamine (TPIg-SP) [25] à la dose de 3 comprimés en prise unique chez la femme immunocompétente (4^e mois et 7^e/8^e mois). Le TPIg-SP à trois doses est recommandé chez la femme enceinte VIH +, en zone d'endémie, non soumise à la prophylaxie au co-trimoxazole, durant toute la grossesse à partir de la 16^e semaine d'aménorrhée [24,26].

L'objectif de notre étude était d'évaluer la morbidité palustre et la fréquence des marqueurs moléculaires de résistance à la SP et à la chloroquine dans le district de Fana.

Patients et méthodes

Site d'étude

Le travail a été réalisé dans le centre de santé de référence de la commune de Fana, zone cotonnière située dans la préfecture du cercle de Dioïla, dans la région de Koulikoro à une centaine de kilomètres à l'est de Bamako. La population de la commune était estimée à 19 800 habitants en 2006 [11] avec un nombre de grossesses attendues de 1200 par an.

Le climat est de type soudano-sahélien. Le paludisme y est saisonnier, prédominant en saison de pluies du mois de juin au mois de septembre avec des pics de prévalence et d'incidence en octobre-novembre. *Plasmodium falciparum* est l'espèce dominante avec plus de 90 % de la formule parasitaire [10]. Les principaux vecteurs du paludisme dans la zone de Fana sont les membres des complexes *An. gambiae sl* et *An. funestus sl* [10].

Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale d'observation qui s'est déroulée de novembre 2005 à janvier 2006.

Population d'étude et échantillonnage

L'ensemble des femmes enceintes venues pour accouchement au Centre de santé de Fana durant notre période d'étude était éligible. Au total, 1 200 accouchements étaient

attendus en 2006. Nous avons échantillonné 200 femmes enceintes sur une période de trois mois. La taille minimum de l'échantillon a été calculée à partir d'un taux de prévalence du paludisme dans la population des femmes enceintes à Koro avec le même niveau d'endémicité que Fana, de 25 % [14] et un risque Alpha de 5 %. La formule d'estimation de la précision du taux de prévalence a été utilisée, avec une précision de 7 %. Nous avons ajusté cette taille minimum en tenant compte de 10 % de dossiers inexploitable et/ou de refus de consentement et/ou de résultats inexploitable.

Collecte des données et d'échantillons biologiques

À l'accouchement et après l'obtention du consentement éclairé, les femmes ont été soumises à un questionnaire pour la collecte des informations sociodémographiques: l'âge, la parité, la résidence. La goutte épaisse et les confettis étaient systématiquement réalisés au niveau du sang périphérique et du placenta. La mesure du taux d'hémoglobine a été réalisée à partir du sang capillaire périphérique de la mère.

Analyses biologiques (parasitologiques, hématologiques et moléculaires)

La détection des parasites et la quantification de la charge parasitaire de l'infection à *P. falciparum* ont été réalisées par la goutte épaisse à partir du sang périphérique de la mère [19] et par appositions placentaires. L'ADN plasmodial a été extrait à partir des confettis du sang placentaire et du sang périphérique, en utilisant le kit Qiagen®. Les mutations *Pfcr*, DHFR et DHPS ont été recherchées par l'application du protocole déjà validé par Djimdé et al (2001) [9].

À l'accouchement, l'anémie a été évaluée par l'Hémocue® en mesurant le taux d'hémoglobine (Hb) à partir d'un prélèvement capillaire au niveau du bout du doigt. Le seuil de l'anémie a été défini pour les femmes enceintes en utilisant les normes de l'OMS (anémie = taux d'Hb < 8 g/dl) [5].

Validation, saisie et analyse statistiques des données

Les données ont été recueillies sur un questionnaire standard testé et validé, le Case Report Form (CRF). Les données ont été doublement saisies sur le logiciel Access puis analysées sur le logiciel SPSS version 12.0. Les tests de Khi2 et de probabilité exacte de Fisher ont été utilisés pour comparer les proportions. Une différence/association statistique était considérée significative si $p \leq 0,05$.

Considérations éthiques

Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique institutionnel de la Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie en août 2005 avant le démarrage de l'étude.

À l'accouchement, la participation des femmes à l'étude était subordonnée à l'obtention du consentement libre et éclairé.

Résultats

Caractéristiques de la population d'étude

Parmi les femmes qui ont participé à l'étude, celles âgées de 14-19 ans prédominaient, soit 28,5 % (57/200). Les participantes étaient essentiellement rurales et non alphabétisées (73 %). Les femmes de gestité supérieure ou égale à 3 représentaient plus de la moitié (59 %) de l'échantillon (Tableau 1).

Le taux de prévalence globale du paludisme infection était de 52,3 % (104/200), alors que celui de l'infection placentaire était de 15 % (30/200). La formule parasitaire était mono spécifique à *P. falciparum*.

Le taux de prévalence de l'anémie était de 44,5 % (89/200). Dans notre échantillon, 21,5 % (43/200) des femmes enceintes étaient soumises à une chimioprophylaxie à la chloroquine. Au total, 61,5 % (123/200) des femmes utilisaient une moustiquaire (imprégnée ou non d'insecticide) pendant leur grossesse.

Résultats des analyses moléculaires

Parmi les femmes infectées, 28,8 % (30/104) avaient une infection à *P. falciparum* au niveau du placenta. Nous avons comparé le niveau de mutation des gènes *Pfprt* K76T,

DHPS A437G et du DHFR (codons 51, 59, 108) des souches plasmodiales dans le sang (sang périphérique et placenta) des 30 femmes parasitées. À l'analyse, nous avons obtenu des bandes interprétables à la PCR dans 16 couples d'échantillons de sang périphérique-placenta pour les différents marqueurs moléculaires testés.

Les fréquences des mutants *Pfprt* K76T, DHFR et DHPS A437G sont présentées dans le tableau 2. Il ressort de l'analyse du tableau que tous les 16 échantillons de sang prélevés au niveau du placenta présentaient la mutation *Pfprt* K76T ($p=0,004$). Pour les autres marqueurs de mutation moléculaire, la fréquence des mutations ne variait pas significativement quel que soit le site de prélèvement ($p>0,05$). Nous n'avons pas observé de mutants K540E du gène DHPS, ni DHFR164L dans les échantillons de sang périphérique et de placenta provenant de notre échantillon en 2006.

La figure 1 montre que la fréquence des mutants *Pfprt* était très élevée dans le sang périphérique (68,8 %) et dans le placenta (100 %).

Discussion

Ce travail nous a permis d'estimer le taux de prévalence parasitaire (sang périphérique et placentaire) et le taux de l'anémie dans la population des femmes enceintes à Fana en 2006. Le taux de prévalence globale de l'anémie était de 44,5 %. Ce taux était plus faible que celui observé dans la zone de Bancoumana (54 %) [7] où le niveau de la transmission était similaire. Au Burkina Faso, des taux de prévalence de l'anémie de 50,3 % ont été décrits en 2003 [3]. Les deux études précédentes ayant été conduites pendant la saison de transmission intense du paludisme (juillet-octobre) et la nôtre en fin de saison de transmission (novembre-janvier), cela pourrait expliquer la différence avec nos résultats.

L'indice plasmodique dans le sang périphérique était de 52,3 %. Cet indice était comparable à ceux obtenus à l'hôpital national de Niamey (24,4 %) [8], à Koro (58,8 %) [14] et à Faladié au Mali (50,3 %) [6]. Il est en revanche inférieur au taux enregistré à Bancoumana (23,9 %) [13]. La variation de l'indice plasmodique qui est modulée par la

Tableau 1 Répartition des patientes en fonction de la gestité dans le CSRéf de Fana en 2006 / *Repartition of patients in relation to the pregnancy in the Reference Health Center (RHC) of Fana, 2006.*

Gestité	N	Pourcentage
Primigeste	43	21,5
Secondigeste	39	19,5
Gestité ≥ 3	118	59
Total	200	100

Tableau 2 Fréquence des mutations moléculaires (*Pfprt*, DHFR, DHPS) en fonction des sites de prélèvement, dans les populations parasitaires des femmes enceintes à Fana en 2006 / *Frequency of molecular mutations (*Pfprt*, DHFR, DHPS) in relation to the sampling sites through parasites population of pregnant women in Fana, 2006.*

	<i>Pfprt</i>		DHFR51		DHFR59		DHFR108		DHPS437	
	Pos	%	Pos	%	Pos	%	Pos	%	Pos	%
Sang périphérique n=16)	11	68,8	2	12,5	2	12,5	3	18,8	4	25
Placenta (n=16)	16	100	3	18,8	2	12,5	3	18,8	4	25
Fisher Exact test		p=0,004		p=0,12		p=0,4		p=0,6		p=0,75

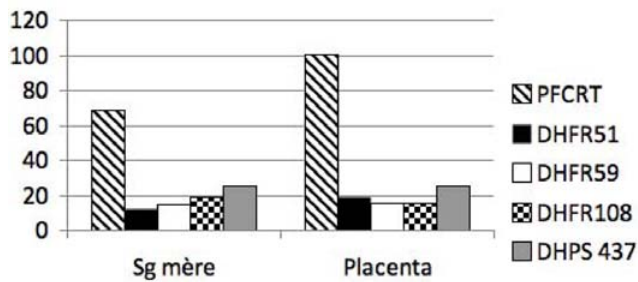


Fig. 1 Variation de la fréquence des marqueurs de mutation moléculaire selon le site de prélèvement, dans la population parasitaire des femmes accouchées à Fana en 2006 / *Variation of molecular mutation markers frequency in relation to the sampling site in the parasite population in the delivered women of Fana, 2006*

saison de transmission, le faciès épidémiologique ainsi que le niveau d'urbanisation et d'accès aux stratégies de prévention (MIIs, TPIg-SP) serait à l'origine des différences observées dans les résultats.

La population des femmes enceintes âgées 14 à 19 ans était la plus représentée avec 28,5 % au cours de notre étude à Fana. La proportion élevée d'adolescentes dans notre échantillon pourrait s'expliquer par le mariage précoce de jeunes filles dans cette zone, pratique préjudiciable à la santé maternelle et infantile [26].

Le taux de portage du *Plasmodium* dans le sang périphérique était plus élevé chez les femmes primipares (25,5 %), comparées aux multipares (11,07 %), ($p=0,02$). La morbidité additionnelle du paludisme et de l'anémie chez les primipares a été retrouvée au Mali dans les zones de transmission comparables [7]. Une telle observation souligne la nécessité de cibler et de renforcer les efforts de la communication pour le changement de comportement (CCC) à l'endroit de cette population vulnérable.

Nous avons observé un taux de prévalence globale de l'infection placentaire de 15 % (30/200). Ce taux était inférieur à celui observé à Koro (28,7 %) [16]. La population d'étude de Koro composée essentiellement de primigestes et de secondigestes pourrait expliquer la différence observée d'avec nos résultats. Le niveau de couverture élevé des femmes enceintes en MIIs et TPIg-SP en zone suburbaine aurait permis d'avoir un taux de prévalence plus faible de 9,5 % au Sénégal [18].

Nous avons observé un taux d'utilisation de moustiquaires (imprégnées ou non) de 61,5 % chez les femmes enceintes à Fana. Ce taux était supérieur à celui enregistré en zone périurbaine de Bamako (32,98 %) [18]. Toutefois, à Fana, le taux d'utilisation élevé des moustiquaires pourrait aussi s'expliquer par la forte nuisance culicidienne associée à la vocation agricole de la zone d'étude.

En dépit de la prohibition de la CQ dans la prévention du paludisme chez la femme enceinte par le Programme natio-

nal de lutte contre le paludisme depuis 2004, 20,5 % des femmes enceintes l'utilisaient encore en 2006 en prévention contre 21 % pour la SP. L'inobservance de la chimioprophylaxie était de 58 % chez les femmes enceintes à Fana. Ce taux pourrait être lié au faible niveau des consultations prénatales au cours de la grossesse. Pour renverser cette tendance, la relance des campagnes de CCC pour la mise en œuvre de l'accès universel des stratégies MIIs et de TPIg-SP dans cette zone serait nécessaire.

Les résultats de notre étude ont montré que les fréquences des mutations des différents gènes étaient inférieures à celles observées à Kollé [12]. Nous n'avons pas mis en évidence dans les échantillons de sang périphérique et de placenta à Fana, de mutants des gènes DHPS K540E et de DHFR 164L. Ce résultat concorde avec celui obtenu au Burkina Faso. L'évaluation de la fréquence des mutations DHFR/DHPS associées à la résistance à la SP au moment de l'accouchement a été entreprise à une période où il était question de mettre en œuvre des stratégies de prévention basées sur l'utilisation de ce médicament en TPIg-SP. À cette période, l'OMS aussi recommandait fortement l'utilisation de la SP 3 doses en TPIg chez les femmes enceintes [25,26]. En effet, un essai clinique randomisé effectué au Mali [4] a montré l'efficacité de trois doses par rapport à deux doses de la SP en TPIg dans la prévention du paludisme placentaire associé au faible poids de naissance. Cependant, certains auteurs ont montré la possibilité d'effets nocifs du TPIg-SP dans les zones d'Afrique de l'Est où la prévalence des mutants DHFR et DHPS est élevée [14,22]. Une méta-analyse des études menées sur l'utilisation de la SP en TPIg a montré l'effet bénéfique des trois doses de SP par rapport aux autres régimes dans la prévention du paludisme au cours de la grossesse ainsi que la réduction des paramètres de morbidité chez le couple mère/enfant [15]. Le choix que nous avons fait d'évaluer aussi le niveau de mutants résistants à la chloroquine se justifiait par l'utilisation continue de cette molécule en dépit de la politique d'abandon de ce médicament pendant la grossesse au Mali par le Programme national de lutte contre le paludisme depuis 2004. La fréquence de mutants de *Pfcr* K76T de 68,8 %, était comparable à celle rencontrée au Sénégal aussi bien dans le sang périphérique (86,2 %) que dans le placenta (85,05 %) [1]. Nous avons noté une fréquence plus élevée de mutants de *Pfcr* au niveau du placenta (100 %). Cela serait-il dû à une agrégation spécifique de ce génotype dans le placenta ? Des études épidémiologiques et de mécanismes biologiques plus approfondies sont nécessaires pour étayer ces résultats préliminaires.

Conclusion

Les résultats de nos travaux montrent que le paludisme et l'anémie étaient prévalents dans la population des femmes

enceintes (surtout les primipares), dans le district de Fana. Nous avons en outre observé une fréquence élevée de parasites chloroquino-résistants au niveau du sang périphérique et du placenta. L'absence de mutations quintuples de la SP ainsi que celle des mutations du gène DHPS codon K540E et de DHFR 164 L étaient en faveur de la poursuite de la stratégie TPIg-SP intégrée à l'utilisation des MII dans la zone de Fana.

Remerciements Nous remercions le Rectorat de l'USTTB qui a financé cette étude dans le cadre de la bourse de recherche octroyée aux assistants. Nos vifs remerciements vont au médecin chef, à la population des femmes enceintes et à tout le personnel du centre de santé de Fana, les équipes du LIG/MRTC et MEDRU/MRTC sans l'appui desquels nous n'aurions pu réussir ce travail. Nos remerciements s'adressent à l'ISFRA, à l'AUF, au PER MRTC-DEAP et au programme MTG du BMP/NIAID/NIH pour le soutien financier à notre formation au Diplôme d'études approfondies et au doctorat). Nous remercions sincèrement les Professeurs Omar Gaye, Martin Danis et Abdoulaye Dabo pour la lecture critique de notre mémoire de DEA (d'où est tiré cet article) et la version finale de ce papier.

Conflit d'intérêt : les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt. Ils ont tous lu et approuvé les différentes versions du papier.

Références

- Bertin G, Ndam NT, Jafari-Guemouri S, et al (2005) High prevalence of *Plasmodium falciparum* pfcrt K76T mutation in pregnant women taking chloroquine prophylaxis in Senegal. *J Antimicrob Chemother.* 55(5):788–91. Epub 2005 Apr 6.
- Brabin BJ (1991) The Risks and Severity of Malaria in Pregnant Women. Geneva, Switzerland: World Health Organization. Applied Field Research in Malaria Reports, No. 1
- Coulibaly SO, Nezien D, Traoré S, et al (2006) Therapeutic efficacy of sulphadoxine-pyrimethamine and chloroquine for the treatment of uncomplicated malaria in pregnancy in Burkina Faso. *Malar J* 5:49
- Diakité OS, Kayentao K, Traoré BT, et al (2011) Superiority of 3 Over 2 Doses of Intermittent Preventive Treatment With Sulfadoxine-Pyrimethamine for the Prevention of Malaria During Pregnancy in Mali: A Randomized Controlled Trial. *Clin Infect Dis* 1(53):215–23
- Diallo D (1999) Les anémies au Mali. Prévalence, groupes cibles, facteurs, démarche du diagnostic, prise en charge du malade anémique. *Mali Médical* XIV (1&2):17–9
- Diallo M, Dabo CAT, Saye R, et al (2007) Essai clinique randomisé de deux schémas de prévention contre le paludisme au cours de la grossesse à Faladié (Mali). *Med Trop* 67(5):477–80
- Diarra A (2003) Evaluation de la situation sanitaire au Mali. Thèse de pharmacie, Bamako, No 2.
- Djibo A, Cenac A (2000) Paludisme congénital. Etudes parasitologiques et sérologiques à Niamey (Niger). *Cahiers d'études et de recherches francophones/Santé* 10:183-7.
- Djimde A, Doumbo OK, Cortese JF, et al (2001) A molecular marker for chloroquine-resistant falciparum malaria. *N Engl J Med* 344(4):257–63
- Doumbo O, Koita O, Traoré SF, et al (1991) Les aspects parasitologiques de l'épidémiologie du paludisme dans le Sahara malien. *Méd Afr Noire* 38(2):103–9
- Enquête Démographique et de Santé du Mali (EDSM-IV) (2006)
- Fofana B (2002) Efficacité de la sulfadoxine-pyriméthamine sur *Plasmodium falciparum* et prévalence des mutations ponctuelles des gènes dhfr rt dhps à Kollé. Thèse Médecine Bamako (Mali) No 53
- Guirou E (2005) Etude comparative de la Chloroquine et de la Sulfadoxine pyriméthamine en traitement préventif intermittent dans la prévention du paludisme pendant la grossesse à Bancoumana. Thèse Médecine No 192
- Harrington WE, Mutabingwa TK, Kabyemela E, et al (2011) Intermittent Treatment to Prevent Pregnancy Malaria Does Not Confer Benefit in an Area of Widespread Drug Resistance. *Clin Infect Dis* 53(3):224–30
- Kayentao K, Garner P, van Eijk AM, et al (2013) Intermittent preventive therapy for malaria during pregnancy using 2 vs 3 or more doses of sulfadoxine-pyrimethamine and risk of low birth weight in Africa: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 309(6):594–604.
- Kayentao K, Kodio M, Newman RD, et al (2005) Comparison of intermittent preventive treatment with chemoprophylaxis for the prevention of malaria during pregnancy in Mali. *J Infect Dis* 191:109–16.
- Menendez C, Ordi J, Ismail MR, et al (2000) The impact of placental malaria on gestational age and birth weight. *J Infect Dis* 181(5):174-5. Epub 2000 May 15.
- N'Dao CT, N'Diaye JL, Gaye A, Le Hesran JY (2006) Infection palustre placentaire et issue de l'accouchement dans une zone périurbaine au Sénégal. *Rev Epidemiol Santé Publique* 54(2): 149–56
- Niangaly F (2001) Efficacité de la chloroquine et de la Sulfadoxine pyriméthamine dans la prévention du paludisme au cours de la grossesse en zone peri-urbaine de Bamako (Mali) Thèse pharmacie Bamako No 147
- Planche T, Krishna S, Kombila M, et al (2001) Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. *Am J Trop Med Hyg* 65(5):599–602
- Steketee RW, Nahlen BL, Parise ME, Menendez C (2001) The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *Am J Trop Med Hyg* 64(1-2 suppl):28-35
- Steketee RW, Wirima JJ, Hightower AW, et al (1996) The effect of malaria and malaria prevention in pregnancy on offspring birthweight, prematurity, and intrauterine growth retardation in rural Malawi. *Am J Trop Med Hyg* 55(1 suppl):33–41
- WHO (2004) Report ARF/MAL/04/01 *A strategic framework for malaria prevention and control during pregnancy in the African region Brazzaville Congo*
- WHO (2004) Malaria and HIV/AIDS interactions and implications Conclusions of a technical consultation Geneva Switzerland
- WHO (2005) Recommendations on the use of sulfadoxine-pyrimethamine (SP) for intermittent preventive treatment during pregnancy (IPT) in areas of moderate to high resistance to SP in the African region
- www.policyproject.com/pubs//Mali_MNPI.pdf