

PARASITOLOGIE

Chimiosensibilité in vivo de *Plasmodium falciparum* dans la région de Tabou en Côte d'Ivoire.

I. Villadary (1), C. Paquet (1), E. Hemelsdael (2), G. Blanchard (2) & Z.M. Saki (3) (4).

(1) Epicentre, 8 rue Saint-Sabin, 75011 Paris

(2) Médecins sans frontières, 8 rue Saint-Sabin, 75011 Paris

(3) Ministère de la santé, Abidjan, Côte d'Ivoire

(4) Manuscrit n° 1741. « Parasitologie », accepté le 17 décembre 1996.

Summary: Study of the resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, pyrimethamine/sulfadoxine and quinine in Tabou district, Côte d'Ivoire.

Key-words: Drug resistance - Malaria, Chloroquinoresistance - Liberians refugees - Tabou - Côte d'Ivoire

Malaria caused by *Plasmodium falciparum* is one of the major health problems in West-Africa, mainly affecting young children. This situation is further complicated by the emergence and rapid progression of resistance to chloroquine, the recommended first line treatment.

In order to document the level of resistance of *P. falciparum* to chloroquine, pyrimethamine/sulfadoxine (Fansidar) and quinine, we performed a survey in Tabou district, Côte d'Ivoire, from June to August 1995. This area has been hosting some 100 000 Liberian refugees since September 1994. Children aged 1 to 15 years old attending the dispensary with a complaint of fever or suspected malaria, were included into the study, diagnosed and followed for 7 days according to the WHO Standard Field (in vivo) Tests.

Overall proportion of *P. falciparum* resistant to chloroquine reached 45.1% and was made of 34.3% type II and 10.8% type III resistance. Being less than 5 years of age and having received a lower dose of drug were 2 factors associated with the risk of resistance to chloroquine. Levels of R II resistance to pyrimethamine/sulfadoxine and quinine (3-day treatment) were respectively 5.4% and 4.2%. No R III resistance was found in neither pyrimethamine/sulfadoxine or quinine treatment groups.

These results challenge the current chloroquine-based first line malaria treatment in Côte d'Ivoire. Alternative based on pyrimethamine/sulfadoxine could be considered, especially in high risk populations during transient situation (refugees). However, elaborating new treatment policy must take into consideration cost, side-effects, compliance and acceptability. Further studies are needed to evaluate the cost-benefit of alternative strategies.

Résumé :

Mots-clés : Résistance thérapeutique - Paludisme - Chloroquino-résistance - Réfugiés libériens - Tabou - Côte d'Ivoire

Entre juin et août 1995, nous avons réalisé une étude des résistances de *Plasmodium falciparum* dans la région de Gosson en Côte d'Ivoire, où vivent plus de 100 000 réfugiés libériens. Tous les enfants entre 1 et 15 ans consultant le dispensaire de Gosson pour suspicion de paludisme au cours de la période de l'étude ont été inclus et suivis pendant 7 jours, selon la méthode in vivo simplifiée recommandée par l'OMS. Trois échantillons ont ainsi été constitués, permettant de mesurer la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine, à la pyriméthamine/sulfadoxine et à la quinine. Parmi les 102 enfants traités par la chloroquine, 34,3% (35/102) ont présenté une résistance de type RII et 10,8% (11/102) une résistance de type RIII. La recherche de facteurs de risque de résistance a permis d'identifier l'âge inférieur à 5 ans et la présence d'un sous-dosage du médicament comme étant associés à une résistance observée à la chloroquine plus fréquente. Les enfants traités par les autres antipaludiques ont uniquement présenté des résistances de type RII, dans une proportion de 5,3% (5/94) pour la pyriméthamine/sulfadoxine, et de 4,2% (4/96) pour la quinine selon un protocole de 3 jours.

Ces résultats pouvaient remettre en question le protocole recommandant la chloroquine en première intention pour le traitement du paludisme dans cette région de Côte d'Ivoire. La pyriméthamine/sulfadoxine pourrait alors constituer une alternative thérapeutique, notamment pour les groupes à risque. Cependant, toute modification des protocoles nationaux devra également prendre en compte le coût, la tolérance et l'acceptabilité des traitements alternatifs à la chloroquine.

Introduction

Le paludisme est l'un des principaux motifs de consultation et l'une des premières causes de mortalité en Côte d'Ivoire (9). La chloroquino-résistance est apparue dans ce pays en 1987 à des proportions d'emblée élevées : 30 % dans la région d'Abidjan (9,10,11). Un système de surveillance de la chimioré-

sistance a été instauré par l'Organisation de coordination et de coopération pour la lutte contre les grandes endémies (OCCGE), compte tenu de l'endémicité de cette pathologie (2,7,8,10).

Le Ministère de la santé et de la protection sociale a défini des protocoles thérapeutiques nationaux pour la prise en charge de cette pathologie : les cas de paludisme non compliqués sont traités en première intention par 25 mg/kg de

chloroquine par voie orale pendant 3 jours consécutifs (10 mg/kg les 2 premiers jours et 5 mg/kg le 3^e jour). Le traitement de seconde intention est la pyriméthamine/sulfadoxine (Fansidar®) à raison d'un comprimé par 20 kg de poids par voie orale et en prise unique. Il n'existe pas de critère objectif de prescription de ce traitement dont l'indication repose le plus souvent sur une impression clinique. Enfin, les cas de paludisme compliqués relèvent d'un traitement par sels de quinine à la dose de 30 mg/kg/j en 3 prises à 8 heures d'intervalle, pendant 7 à 10 jours, à débiter par voie parentérale avec relais *per os*.

La région de Tabou, zone forestière proche de la frontière libérienne, accueille actuellement plus de 100 000 réfugiés libériens. La santé de cette population est en grande partie prise en charge par Médecins sans frontières (MSF) qui a ouvert en mars 1995 un dispensaire à Gosson, village d'environ 11 000 habitants situé à 25 km au nord de Tabou. Le paludisme représente le premier motif de consultation dans ce dispensaire et l'une des principales causes de mortalité.

Les objectifs de l'étude étaient, d'une part, de déterminer la proportion des cas de paludisme à *P. falciparum* parmi les suspicions cliniques vues au dispensaire, d'autre part, de mesurer les proportions de résistance de *P. falciparum* à la chloroquine, à la pyriméthamine/sulfadoxine et à la quinine ; enfin, de rechercher d'éventuels facteurs liés à une résistance observée à la chloroquine.

Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude descriptive transversale réalisée selon le protocole simplifié sur 7 jours des tests *in vivo* recommandés par l'OMS (3,4,5,12,13).

Sélection des patients

Tout enfant entre 1 et 15 ans consultant au centre de santé de Gosson pour fièvre ou suspicion de paludisme était envoyé au laboratoire pour un examen clinique et sanguin. Les enfants qui présentaient une parasitémie exclusive à *Plasmodium falciparum* avec plus de 1000 formes asexuées par mm³ de sang étaient alors inclus dans l'étude.

L'existence d'une autre pathologie sévère pouvant expliquer la fièvre, la notion de prise d'antipaludiques dans la semaine précédant l'inclusion, la présence de signes graves de paludisme, des antécédents d'intolérance aux antipaludiques, une infestation à moins de 1000 trophozoïtes par mm³ ou une infestation par 2 espèces plasmodiales différentes constituaient les critères d'exclusion primaires. Le non respect des protocoles de l'étude ou la survenue d'une pathologie associée nécessitant une prise en charge thérapeutique étaient les critères d'exclusion secondaires.

Constitution des échantillons - protocoles testés

Trois échantillons ont été constitués successivement : un premier groupe de patients a été traité par la chloroquine 25 mg/kg sur 3 jours selon le protocole national de Côte d'Ivoire (10 mg/kg à J0, 10 mg/kg à J1 et 5 mg/kg à J2). Le deuxième groupe, recruté selon les mêmes critères, a été traité par la pyriméthamine/sulfadoxine, 1 comprimé pour 20 kg de poids en prise unique. Enfin, le dernier échantillon a été traité par sels de quinine par voie orale pendant 3 jours à la posologie de 30 mg/kg/j en 3 prises. Le nombre de sujets nécessaire dans chaque groupe a été établi à 100 individus par groupe. La taille de ces échantillons a permis d'obtenir une précision de

8% autour des proportions mesurées pour le groupe chloroquine et de 5% pour le groupe pyriméthamine/sulfadoxine, avec un risque d'erreur de première espèce de 5% et une puissance de 80% en tenant compte des éventuels perdus de vue.

Suivi des patients

Les enfants bénéficiaient d'une consultation médicale chaque jour de leur traitement (J0, J1, J2) ainsi que les jours du contrôle parasitologique (J0, J3, J7). Au cours de ce suivi, un questionnaire comportant un recueil de l'état civil, le poids, la température, l'absence de survenue de pathologie associée était complété. L'administration des comprimés se déroulait sous le contrôle des investigateurs (sauf pour la quinine dont les 2^e et 3^e doses du même jour étaient administrées au domicile, l'enfant ne revenant que le lendemain) et chaque enfant était surveillé durant une demi-heure après la prise médicamenteuse afin de s'assurer de l'absence de vomissement. Un frottis ainsi qu'une goutte épaisse étaient réalisés le jour de l'inclusion puis aux 3^e et 7^e jours de suivi afin de suivre la parasitémie et de déterminer le niveau de la résistance au traitement. Dans le cas où l'enfant ne se présentait pas au dispensaire le jour convenu, une recherche active était effectuée : l'enfant devant bénéficier d'un frottis-goutte épaisse était alors ramené au dispensaire, celui en cours de traitement bénéficiait d'une consultation à domicile avec prise de son traitement et suivi.

Définition des niveaux de résistance

Nous avons utilisé pour notre étude les définitions proposées par Rieckmann (13).

Résistance RIII : tout sujet présentant à 48 heures de traitement révolues (J2 ou J3), une parasitémie supérieure ou égale à 25% de la parasitémie initiale.

Résistance RII : tout sujet dont la parasitémie à 48 heures de traitement révolues (J2 ou J3) était strictement inférieure à 25% de la parasitémie initiale mais dont le contrôle de J7 était positif. Sujet sensible ou résistance RI possible (S/RI) : tout sujet dont la parasitémie à 48 heures de traitement révolues (J2 ou J3) était strictement inférieure à 25% de la parasitémie initiale et dont le frottis-goutte épaisse à J7 était négatif.

La parasitémie était mesurée par le frottis-goutte épaisse coloré au Giemsa et examiné au microscope binoculaire à immersion dans l'huile. La densité parasitaire était mesurée à partir du nombre de formes asexuées pour 200 globules blancs selon la formule :

$N = (n / 200) \times 8000$, où 8000 est le nombre moyen de globules blancs par mm³ de sang en zone tropicale. Une lame était considérée négative après lecture de 200 champs sans observation de forme parasitaire.

Analyse des données

Les résultats ont été analysés séparément pour chacun des groupes thérapeutiques. Le risque de première espèce admis était de 5%. Une étude des facteurs de risque liés à la résistance a été réalisée pour le groupe thérapeutique chloroquine. Le ratio de prévalence (PR) a été utilisé pour la mesure des associations.

Certains patients ayant reçu une posologie de chloroquine inférieure à 25 mg/kg (une seule forme galénique étant disponible : 150 mg sécable au quart), nous avons défini le sous-dosage comme étant l'administration d'une dose globale de chloroquine strictement inférieure à 25 mg/kg. Une analyse stratifiée a permis d'étudier les relations entre l'âge, le sous-dosage et le risque de résistance.

Résultats

Population de l'étude

L'étude s'est déroulée du 14 juin au 25 août 1995 durant la petite saison des pluies. Un effectif total de 1187 enfants a été inclus dans l'étude. 80 % (951/1187) des enfants consultant pour suspicion de paludisme au dispensaire de Gosson ont eu un examen parasitologique positif. *P. falciparum* était la principale espèce plasmodiale responsable des infestations avec une proportion de 60,1% ; *P. malariae*, présent de façon isolée ou associé à une autre espèce, était responsable de 19,2% des cas de paludisme de notre effectif global. Enfin, quelques cas d'infection à *P. ovale* ont été observés : 0,3% de façon isolée et 0,4% associés au *P. falciparum* (tableau I).

Tableau I.

Résultats des frottis-gouttes épaisses chez 1187 enfants consultant pour fièvre ou suspicion de paludisme au dispensaire. (Gosson, Côte d'Ivoire, juin-août 1995)

espèce plasmodiale	nombre d'enfants	%
<i>P. falciparum</i>		
1 000 troph./mm ³ et plus	311	26,2
moins de 1 000 troph./mm ³	402	33,9
<i>P. malariae</i>	66	5,6
<i>P. ovale</i>	4	0,3
infection mixte <i>P. falciparum/P. malariae</i>	162	13,6
<i>P. falciparum/P. ovale</i>	5	0,4
indéterminé	1	0,1
négatif	236	19,9
total	1187	100

Description des échantillons

Au total, 292 enfants ayant une parasitémie supérieure à 1000 trophozoïtes par mm³ de sang et répondant aux autres critères d'inclusion ont été retenus et suivis jusqu'à J7 : 102 dans le groupe thérapeutique de la chloroquine, 94 dans le groupe pyriméthamine/sulfadoxine et 96 dans le groupe quinine. Dans les trois échantillons, l'âge médian des enfants était de 3 ans et plus de 60% des enfants avaient moins de 5 ans. De plus, tous les échantillons étaient à prédominance féminine et la majorité des enfants était d'origine libérienne (tableau II).

Niveaux de résistance selon le traitement

Parmi les 102 enfants traités par la chloroquine, 35 (34,3%) ont présenté une résistance de type RII et 11 (10,8%) une résistance de type RIII. Parmi les 94 enfants traités par la pyriméthamine/sulfadoxine, 5 (5,3%) ont présenté une résistance de type RII. Aucune résistance de type RIII n'a été observée. Parmi les 96 enfants traités par la quinine, 4 (4,2%) ont présenté une résistance de type RII. Aucune résistance de type RIII n'a été observée (tableau III).

Tableau III.

Niveaux de résistance de *P. falciparum* à la chloroquine, à la pyriméthamine/sulfadoxine et à la quinine chez 292 enfants atteints de paludisme. (Gosson, Côte d'Ivoire, juin - août 1995)

niveaux de résistance	chloroquine		Fansidar		quinine	
	%	IC à 95%	%	IC à 95%	%	IC à 95%
sensible / R I tardive	55	[45,2 - 64,3]	95	[88,6 - 98]	96	[90,2 - 98,7]
R I précoce / R II	34	[25,6 - 43,9]	5	[2 - 11,4]	4	[1,3 - 9,7]
R III	11	[5,8 - 18]	0		0	

Tableau II.

Distribution par sexe, classe d'âge et origine géographique des enfants atteints de paludisme dans les trois groupes thérapeutiques. (Gosson, Côte d'Ivoire, juin - août 1995)

	chloroquine		Fansidar		quinine	
	N	%	N	%	N	%
total	102	100	94	100	96	100
sexe						
féminin	57	55,9	53	56,4	57	59,4
masculin	45	44,1	41	43,6	39	40,6
classe d'âge						
1 à 4 ans	67	65,7	60	63,8	61	63,5
5 à 9 ans	25	24,5	25	26,6	26	27,1
10 à 14 ans	9	8,8	9	9,6	8	8,4
15 ans	1	1,0	0	0,0	1	1,0
nationalité						
Ivoirien	4	3,9	2	2,1	0	0,0
Libérien	93	91,2	85	90,4	91	94,8
autres	5	4,9	7	7,5	5	5,2

Facteurs de risque de résistance à la chloroquine

Parmi les enfants de moins de 5 ans, 60 % (40/67) ont présenté une résistance à la chloroquine. Cette proportion n'était que de 17 % (6/35) chez les enfants de 5 ans et plus (ratio de prévalence : PR = 3,48 avec IC à 95 % [1,64 - 7,41]). La proportion de résistance à la chloroquine était de 58 % (25/43) chez les enfants ayant reçu moins de 25 mg/kg de chloroquine tandis que chez ceux ayant reçu une dose correcte, cette proportion n'était que de 35 % (21/59) (PR = 1,63 avec IC à 95 % [1,07 - 2,5]).

Dans un deuxième temps, après avoir vérifié l'absence d'interaction entre l'âge et le sous-dosage (Khi-2 = 0,14 avec p = 0,707), une analyse stratifiée a été entreprise :

- l'âge reste un facteur de risque de résistance à la chloroquine avec un ratio de prévalence élevé, que le sous-dosage soit présent ou non (PR = 3,31, IC à 95 % [1,54-7,15]).
- le sous-dosage semble toujours associé à l'observation d'une résistance chez les enfants de moins de 5 ans (PR = 1,48, IC à 95 % [0,99-2,22]), tandis que chez les enfants de plus de 5 ans cette association semble disparaître (PR = 1,09, IC à 95 % [0,23-5,09]).

Discussion

Notre étude a permis de documenter l'état des résistances du *P. falciparum* dans une région pour laquelle peu de données existaient antérieurement, notamment depuis les modifications importantes de l'environnement social et démographique (populations réfugiées, déforestation, riziculture). Les résultats de cette étude montrent un niveau très élevé de résistance de *P. falciparum* à la chloroquine (RII = 34,3% ; RIII = 10,8%), l'existence d'une résistance à la pyriméthamine/sulfadoxine (RII = 5,3%) et un bas niveau de résistance à la quinine prescrite selon un protocole court (RII = 4,2%).

Nos trois échantillons ayant été recrutés successivement dans le temps, notre étude n'est pas un essai comparatif. Un certain nombre de biais ont pu survenir limitant la comparaison des résultats obtenus entre les trois groupes thérapeutiques. Cependant, la durée brève de l'étude, l'absence de modification de l'environnement au cours de son déroulement et le maintien des mêmes critères d'inclusion et d'exclusion des enfants, permettent de considérer que les proportions de résistance de *P. falciparum* aux différents antipaludiques testés ont été obtenus dans des conditions comparables.

La validation de l'absence de prise d'un antipaludique dans la semaine précédant l'inclusion reposait uniquement sur l'interrogatoire, et aucun test urinaire n'a été réalisé. Ce choix a pu sous-estimer le nombre d'enfants traités dans les 7 jours précédant l'étude, et par conséquent a pu modifier les niveaux de résistance mesurés. Cependant, la population de l'étude, en majorité réfugiée et sans ressource, n'avait pas d'autre alternative de recours aux soins gratuits que le dispensaire où était réalisé notre recrutement. On peut donc raisonnablement considérer que la proportion d'enfants ayant consommé un antipaludique dans la semaine précédant l'enquête, et qui omettaient de le signaler à l'interrogatoire, était négligeable.

Le constat que certains enfants aient été sous-dosés en chloroquine (N=43) et que ce sous-dosage apparaisse associé à un risque plus élevé de résistance, du moins chez les moins de 5 ans, aurait pu laisser supposer que ces enfants n'étaient pas résistants mais sous-traités. En fait, le contrôle de la prise du traitement et le suivi pendant une demi-heure garantissaient que les doses ingérées n'étaient pas différentes de celles habituellement données et que par conséquent nous étions dans les conditions réelles d'une pratique quotidienne.

Nos résultats sont susceptibles de remettre en question la chloroquine, en tant que traitement de première intention du paludisme dans cette région de Côte d'Ivoire. Un changement de conduite thérapeutique sous-entend la prise en compte d'un certain nombre de critères : efficacité thérapeutique, mais aussi disponibilité du médicament, coût, adhésion au traitement, tolérance (1,6). Cependant, le contexte local (situation transitoire de la population, disponibilité des médicaments) associé à l'identification des facteurs de risque de résistance à la chloroquine, représentent deux arguments pour préconiser l'association sulfamide/pyriméthamine pour les groupes à risque (1).

Le niveau de résistance à la pyriméthamine/sulfadoxine est faible selon nos résultats : 5,3% de résistance de type RII, pas de résistance de type RIII. Ce résultat a été obtenu chez des enfants traités en première intention par ce médicament. L'intérêt de ce résultat est d'autant plus important que la pyriméthamine/sulfadoxine constitue l'alternative au traitement par la chloroquine.

Cette étude a permis d'apporter la confirmation parasitologique aux suspicions cliniques de paludisme et de connaître les niveaux de résistance aux antipaludiques utilisés dans un environnement particulier modifié par l'arrivée d'une population réfugiée. La remise en cause de la chloroquine comme traitement de première intention devra cependant tenir compte des résultats d'enquêtes complémentaires sur la tolérance, l'acceptabilité, les coûts-efficacité de ces traitements.

Remerciements

Cette étude a été financée par Médecins Sans Frontières. Nous remercions les autorités ivoiriennes pour avoir permis la réalisation de cette étude. Nous remercions également les équipes de MSF en Côte d'Ivoire pour leur soutien.

Références bibliographiques

1. Anonyme. Les défis de la lutte contre le paludisme en Afrique. ACSI-CCCD. USAID. CDC. 1994, 11-24.
2. Anonyme. Lutte contre le paludisme en Afrique : progrès et priorités. Partie II : CCCD à l'oeuvre dans les pays d'Afrique Equatoriale : la Côte d'Ivoire. ACSI-CCCD. USAID. CDC. 1994, 59-62.
3. BAUDON D, GUIGEMDE TR & OUEDRAOGO JB. Surveillance de la sensibilité de *P. falciparum* en Afrique de l'Ouest, intérêt de l'utilisation des tests *in vivo* à 5 et 10 mg/kg. *Bull Soc Path Ex*, 1987, **80**, 469-476.
4. BJÖRKMAN A, WILLCOX M, MARBIAH N & PAYNE D. Susceptibility of *Plasmodium falciparum* to different doses of quinine *in vivo* and to quinine *in vitro* in relation to chloroquine in Liberia. *Bull OMS*, 1991, **69**, 459-465.
5. EKANEM OJ, WEISFELD JS, SALAKO LA, NAHLEM BL, EZEDINACHI ENU *et al.* Sensitivity of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and sulfadoxine/pyrimethamine in Nigerian children. *Bull OMS*, 1990, **68**, 45-52.
6. GOZAL D & HENGY C. Treatment of malaria with sulfadoxine/pyrimethamine : note of caution. *Lancet*, 1990, **336**, 111-112.
7. GUIGEMDE TR, GBARY AR, OUEDRAOGO, GAYIBOR A *et al.* Point actuel sur la chimiorésistance du paludisme des sujets autochtones dans les Etats de l'OCCGE (Afrique de l'Ouest). *Ann Soc Belge Méd Trop*, 1991, **71**, 199-207.
8. KWABENA OM & ADUBOFOUR MD. Drug resistance in malaria: a review of the West African situation. *J Nat Med Assoc*. 1992, **84**, 1025-29.
9. Ministère de la Santé et de la Protection Sociale. République de Côte d'Ivoire. Niangue, J et Bassalia, D. Programme national de lutte contre le paludisme. Octobre 1992.
10. OUEDRAOGO JB, GUIGEMDE TR, SOMDA A, GBARY AR & BAUDON D. Une méthode simplifiée de surveillance active de la chloroquinosensibilité de *Plasmodium falciparum* par les centres de santé périphériques. *Méd Afr Noire*, 1987, **34**, 711-717.
11. PENALI LK, KONE M, KOMENAN A & COULIBALY L. Baisse du niveau de la chloroquino-résistance de *Plasmodium falciparum* dans la région d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Méd Trop*, 1993, **53**, 191 - 194.
12. PRASAD RN, PRASAD H, VIRK KJ & SHARMA VP. Application of a simplified *in vivo* test system for determining chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*. *Bull OMS*, 1990, **68**, 755-758.
13. RIECKMANN KH. Monitoring the response of malaria infections to treatment. *Bull OMS*, 1990, **68**, 759-760.