

ABREVIATIONS

Cp	=	comprimé
°C	=	degré Celsius
DP	=	densité parasitaire
DPM	=	densité parasitaire moyenne
ETP	=	échec thérapeutique précoce
ETT	=	échec thérapeutique tardif
g	=	gramme
GE	=	goutte épaisse
Gp	=	glucoprotéine
HB	=	hémoglobine
Ht	=	hématocrite
J 0	=	premier jour
J 3	=	trois jours après
Kg	=	kilogramme
Km ²	=	kilomètre-carré
Mg	=	milligramme
Mg/kg	=	milligramme par kilogramme
Mg/kg/j	=	milligramme par kilogramme par jour
ML	=	millilitre
Mm ³	=	millimètre-cube
Nmol/l	=	nanomole par litre
N°	=	numéro
OMS	=	Organisation mondiale de la santé
P/μl	=	parasites par microlitre
PNLP	=	Programme National de Lutte contre le Pludisme
PNLS	=	Programme National de Lutte contre le Sida
UCAD	=	Université Cheikh Anta Diop de Dakar

$<$	$=$	inférieur à
$>$	$=$	supérieur à
$=$	$=$	égale à

SOMMAIRE

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION.....	1
 <u>PREMIERE PARTIE : RAPPELS SUR LE PALUDISME ET L'INFECTION A VIH/SIDA</u>	
 <u>A - RAPPELS SUR LE PALUDISME</u>	
I. DEFINITION.....	4
II. LES AGENTS PATHOGENES.....	4
II.1 Les cycles parasitaires.....	5
III. REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	8
IV. RECEPTIVITE DE L' HOMME AU PALUDISME.....	9
IV. 1 Résistance innée	9
IV. 2 L'immunité anti – palustre	10
V. INDICATEURS EPIDEMIOLOGIQUES.....	11
V. 1 Chez l'homme.....	11
V. 2 Chez le vecteur	12
VI. SYMPTOMATOLOGIE.....	13
VI. 1 Paludisme de primo – invasion.....	13
VI. 2 Accès intermittents palustres.....	14
VI. 3 Paludisme viscéral évolutif (P.V.E).....	14
V. 4 Complications.....	15
VII. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE.....	16
VII. 1 Diagnostic parasitologique direct.....	16
VII. 2 Méthodes indirectes.....	19
VII. 3 L'apport de la biologie moléculaire.....	22
VIII. LES ANTIPALUDIQUES.....	23
VIII.1 Les schizontocides.....	23
VIII.2 Les gamétocytocides.....	28
VIII.3 Les antibiotiques.....	28
VIII.4 Autres produits.....	29

IX. PHARMACORESISTANCE.....	30
IX. 1 Définition	30
IX. 2 Historique.....	30
IX. 3 Mécanismes de la chloroquinorésistance.....	31
IX. 4 Principales causes de l'apparition et de la propagation.....	31
IX. 6 Evaluation de la pharmacorésistance.....	32

B - RAPPELS SUR L'INFECTION A VIH/SIDA

I. CHAPITRE I : LE VIH /SIDA EN GENERAL

1. HISTOIRE NATURELLE ET CLASSIFICATION.....	38
1.1. Histoire naturelle de l'infection à VIH/SIDA.....	38
1.2. Classification de l'infection à VIH/SIDA.....	41
2. LES VIRUS DU SIDA.....	45
2.1. Classification des rétrovirus et VIH.....	45
2.2. Propriétés structurales du VIH.....	46
2.3. Les cibles du virus.....	46
2.4. La réplication virale.....	47
2.5. Variation génétique.....	48
2.6. Transmission du VIH /SIDA.....	48
3. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'INFECTION A VIH.....	50
3.1. Diagnostic indirect.....	51
3.2. Diagnostic direct.....	53
3.3. Le suivi biologique.....	54
4. LA PREVENTION DU SIDA.....	55

II. CHAPITRE II : LE SIDA DANS LES REGIONS TROPICALES

1. EPIDEMIOLOGIE.....	56
1.1. Les groupes à risque.....	56
1.2. L'ampleur du fléau.....	58
2. IMMUNOLOGIE.....	60
3. VIROLOGIE.....	62
4. ASPECTS CLINIQUES.....	63

DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL

I. CADRE D' ETUDE.....	65
1. Le dispensaire municipale de Pikine.....	65
2. Le CHU de Fann.....	66
II. MALADES ET METHODES.....	68
1. Malades.....	68
1.1. Les cas.....	68
1.2. Les témoins.....	69
2. Méthodes.....	70
2.1. Recrutement des malades.....	70
2.2. Les techniques de laboratoire pour le diagnostic et la sérologie.....	71
2.3. Test de chimiosensibilité <i>in vivo</i>	81
2.4. Test de chimiosensibilité <i>in vitro</i> à la chloroquine par le DELI – test...84	
2.5. Le génotypage de <i>Plasmodium falciparum</i>	89
III. RESULTATS.....	93
1. Etude des témoins	93
1.1. Population d'étude.....	93
1.2. Etude clinique.....	94
1.3. Aspects hématologiques.....	95
1.4. Aspects parasitologiques.....	95
1.5. Tests <i>in vivo</i>	96
1.6. Test de chimiosensibilité <i>in vitro</i> (DELI – TEST) à la chloroquine.....	97
2. Etude des cas (sujets paludéens, VIH positifs).....	101
2.1. La prévalence.....	101
2.2. Observation.....	101
3. Génotype de <i>P. falciparum</i> cas et témoins.....	104
IV. DISCUSSION.....	105
V. CONCLUSION GENERALE.....	116
VI. BIBLIOGRAPHIE.....	120

INTRODUCTION

L'infection à VIH et le paludisme à *Plasmodium falciparum* constituent à l'heure actuelle, en Afrique au sud du Sahara, deux maladies infectieuses très répandues, et deux des plus importants problèmes de santé publique dans les pays en développement. Ils sont responsables d'une importante morbidité et de mortalité.

Le paludisme est responsable d'une morbidité élevée, 300 millions de cas chaque année, mais également une mortalité élevée de l'ordre de 2 millions [37]. La plupart des cas survient en région Africaine où le paludisme est endémique dans la quasi-totalité des pays. On estime que sur une population exposée de 530 millions d'habitants, 275 millions sont porteurs de plasmodium, ou hématozoaires. Le nombre de cas cliniques dépasse 100 millions. Le paludisme tue un enfant sur 20 avant l'âge de 20 ans en Afrique subsaharienne. Ainsi en Afrique, le paludisme coûte cher en vies humaines, mais aussi en frais médicaux et en journées de travail perdues. D'où l'intérêt de toute étude la concernant.

Au Sénégal, où il sévit de manière endémique, avec une recrudescence des cas pendant la saison des pluies, Il constitue, selon les données épidémiologiques de la division des statistiques sanitaires, l'une des principales causes de morbidité (avec 35% des motifs de consultation) et de mortalité.

L'infection à VIH/SIDA, très dévastatrice, représente un fardeau particulièrement lourd pour les pays Africains et constitue une entrave importante à leur développement. Partout dans le monde elle gagne du terrain, et constitue un problème de santé prioritaire. Au Sénégal le taux de séroprévalence est de 2% environ selon le programme national de lutte contre le Sida (PNLS)

L'infection par le VIH entraîne une détérioration progressive du système immunitaire aboutissant à un syndrome clinique, suivi par l'apparition

d'infections opportunistes et souvent par certaines formes de cancer. Et comme les maladies tropicales agissent elles aussi de façon importante sur le système immunitaire. Il importe d'examiner de quelle façon les maladies tropicales dont le Paludisme, influencent l'infection par le VIH, ou sont influencées par elle, et de déterminer l'impact potentiel de telles interactions sur la santé publique.

Il existe un potentiel d'interaction entre le paludisme et l'infection par le VIH. En effet cette dernière peut réduire l'immunité antipalustre, le plus souvent suite à de graves infections. Inversement la déficience immunitaire causée par l'infection à VIH peut réduire la réaction immunitaire au paludisme et mener à une plus grande fréquence des accès palustres. Aussi cette déficience immunitaire influencerait – elle la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* et l'apparition des gènes de résistance.

En zone tropicale , une des caractéristiques essentielles de l'infection à VIH est son association fréquente avec les maladies parasitaires et infectieuses en général. C'est pour cette raison que des infectiologues cherchent, depuis quelques années à établir un lien entre l'expression clinique de ces deux affections.

Les influences réciproques de la co-infection Paludisme – VIH ne sont pas parfaitement connues et les données actuelles ne font pas l'unanimité.

Les objectifs de notre étude sont les suivants :

- ◆ Déterminer les taux de prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* chez les cas et les témoins
- Evaluer la chloroquinorésistance (*in vivo* et *in vitro*) de *Plasmodium falciparum* chez le cas et les témoins

- Déterminer l'effet du paludisme sur la charge virale et le taux de CD4
- ◆ Déterminer les gènes de résistance de *Plasmodium falciparum* (cas et témoins) à la chloroquine
- Formuler des recommandations

Après une première partie consacrée à des rappels sur le paludisme et l'infection à VIH/Sida, nous aborderons dans une deuxième partie, notre travail personnel, qui comportera plusieurs chapitres :

- ✓ le cadre d'étude,
- ✓ la méthodologie utilisée,
- ✓ les résultats,
- ✓ la discussion,

Enfin nous terminerons par formuler des recommandations.

PREMIERE PARTIE :
GÉNÉRALITÉS SUR
LE PALUDISME
ET
L'INFECTION À
VIH/SIDA

A -
GÉNÉRALITÉS
SUR LE
PALUDISME

I. DEFINITION

Le paludisme encore appelé malaria est une maladie parasitaire fébrile endémo-épidémique due à l'action pathogène de parasites hématozoaires appelés plasmodiums qui sont des protozoaires animaux appartenant au phylum des *Apicomplexa*, à la classe des *Sporozoea*, à la sous classe des *Coccidia*, à l'ordre des *Eucoccidiida*, au sous ordre des *Haemosporina*, à la famille des *Plasmodiidae* et au genre *Plasmodium* [20]

C'est une érythrocytopathie transmise à l'homme par la piqure de l'agent vecteur, un moustique, l'anophèle femelle. Ce sont des insectes diptères, nématocères appartenant à la famille des *Culicidae* ou Moustiques, à la sous-famille des *Anophelinae* et au genre Anophèles. Ce sont exclusivement les femelles d'anophèles qui sont hématophages et donc transmettent la maladie à l'homme, le mâle se nourrit de jus sucrés.

II. LES AGENTS PATHOGENES [42, 12]

Quatre espèces plasmodiales peuvent être agents du paludisme humain :

⇒ *Plasmodium falciparum* : découvert par Welch en 1887, c'est l'espèce la plus dangereuse, qui tue et qui est la plus répandue en régions chaudes. Il est l'agent de la fièvre tierce du paludisme des tropiques, de l'accès pernicieux et indirectement de la fièvre bilieuse hémoglobinurique. Sa longévité est de deux mois en moyenne ; elle atteint exceptionnellement un an.

⇒ *Plasmodium vivax* : découvert par Grassia Felletti en 1890, surtout retrouvé en Amérique latine et en asie. Il est l'agent de la fièvre tierce bénigne : sa durée de vie atteint 3 à 4 ans.

⇒ *Plasmodium malariae* : découvert par Lavarán en 1881, c'est l'agent de la fièvre quarte, localisée en foyers, en zones tropicales. Il a une longévité de 20 ans

⇒ *Plasmodium ovale* : rare, est aussi l'agent de la fièvre tierce bénigne

II.1 Les cycles parasitaires [36]

Le cycle des *Plasmodiums* comporte une phase sexuée qui se déroule chez l'insecte vecteur, l'anophèle femelle, et une phase asexuée observée chez l'hôte intermédiaire vertébré.

a) La phase asexuée

Elle est caractérisée par la multiplication du parasite par schizogonie. On distingue deux types de schizogonie:

❖ la schizogonie exoérythrocytaire:

Lors d'une piqure par le moustique contaminé, les sporozoïtes, cellules infectantes sont injectés dans la circulation sanguine. En quelques dizaines de minutes ils pénètrent dans les hépatocytes où ils se transforment en cellules végétatives appelées trophozoïtes.

Grâce à des mitoses répétitives et à la différenciation de nouveaux germes unicellulaires infectants (ou mérozoïtes éxoérythrocytaires) le nombre de parasites s'accroît rapidement. La lyse de l'hépatocyte libère plusieurs milliers de mérozoïtes qui migreront via la voie sanguine vers les hématies.

Chez *P. vivax* et *P. ovale*, les sporozoïtes peuvent rester à l'état de dormance dans les hépatocytes sous la forme d'hypnozoïtes et ne se développer qu'ultérieurement (périodes de reviviscence).

La schizogonie éxoérythrocytaire qui dure 6 à 9 jours chez *P. falciparum* et 15 jours chez *P. malariae* est souvent asymptomatique.

❖ **la schizogonie endoérythrocytaire:**

Les mérozoïtes éxoérythrocytaires libérés des hépatocytes pénètrent dans les érythrocytes par un mécanisme complexe où ils évoluent en stade jeune trophozoïte (" anneau " ou " ring "), trophozoïte mature puis schizonte (forme de multiplication et de maturation).

La rupture de la membrane du globule rouge par le schizonte mature (stade en rosette) libère les mérozoïtes qui vont envahir des hématies saines et initier un nouveau cycle de développement intracellulaire ou se différencier en gamétocytes mâles et femelles.

Le cycle endoérythrocytaire dure 48 heures chez *P. vivax*, *P. ovale* et *P. falciparum* et 72 heures chez *P. malariae*.

Les signes pathologiques du paludisme sont généralement détectés au cours de la schizogonie endoérythrocytaire: l'éclatement des globules rouges contenant les formes schizontes matures libère outre les mérozoïtes, de l'hémozoïne (pigment malarique provenant de la dégradation de l'hémoglobine) et des substances toxiques inductrices des accès fébriles caractéristiques de la maladie.

b) La phase sexuée

Les gamétocytes absorbés lors du repas sanguin d'un anophèle femelle subissent la gamétogenèse dans l'estomac du moustique.

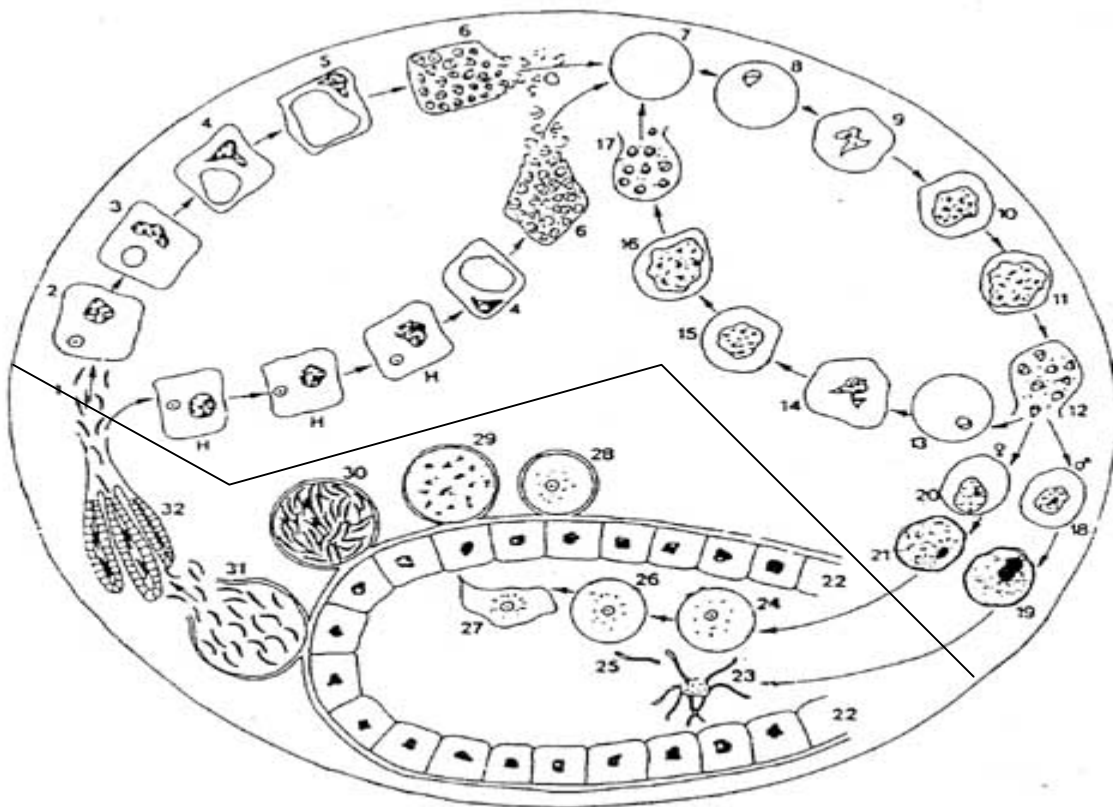
Le gamétocyte mâle différencie en l'espace d'une dizaine de minutes 8 microgamètes haploïdes et flagellés; c'est le phénomène d'exflagellation. Le gamétocyte femelle évolue en un macrogamète sans division nucléaire.

La fécondation donne naissance à un zygote mobile (ookinète) qui traverse l'épithélium intestinal et s'enkyste entre la lamelle basale et les cellules épithéliales pour évoluer en oocyste.

L'oocyste subit une division réductionnelle suivie de mitoses multiples donnant naissance à des milliers de sporozoïtes.

Après éclatement de l'oocyste, et par un tropisme mal connu, les sporozoïtes migrent dans les glandes salivaires où ils s'accumulent.

CHEZ L'HOMME



CHEZ L'ANOPHELE

Figure I : Cycle de développement d'un *Plasmodium de primate*

(d'après Bray & Garnham, 1982).

1: Injection des sporozoïtes lors de la piqûre de moustique.

2-6: schizogonie exoérythrocytaire; **H:** hypnozoïtes.

7-17: cycle endoérythrocytaire.

18-21: différenciation des gamétocytes.

22: ingestion des gamétocytes par le moustique.

23-27: évolution des gamétocytes et fécondation dans la lumière intestinale de l'insecte.

28-30: migration de l'ookinète, évolution en oocyste et différenciation des sporozoïtes.

31-32: libération des sporozoïtes et migration vers les glandes salivaires du moustique.

III. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

C'est en Afrique intertropicale, dans la ceinture de pauvreté du monde, où vivent 400 millions de personnes, que la situation est tout à la fois la plus préoccupante et la plus difficile à préciser. *P. falciparum*, agent du paludisme grave, y sévit en cohabitation avec *P. malariae* (10 à 15%) et, pour une moindre part avec *P. ovale*.

En dehors de l'Afrique, 70 % des cas mondiaux sont observés dans six pays : l'Inde, le Brésil, l'Afghanistan, le Viêt-Nam, la Colombie, les îles Salomon[7].

En Asie, le paludisme sévit intensément avec la présence de *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax*.

L'Amérique du nord est indemne de paludisme. Il existe par contre en Amérique centrale et du sud où il est en progression.

En Océanie certaines îles sont atteintes.

Compte tenu de la variabilité des différentes composantes du système épidémiologique (anophèle, parasite, homme, environnement), le paludisme n'est pas une entité homogène. Et cette hétérogénéité du paludisme a introduit la notion de « faciès ».

Le concept de faciès épidémiologiques a été établi pour l'Afrique de l'Ouest par P. Carnevale et Coll. [7], puis généralisé à toute la région afro tropicale par J. Mouchet et Coll. [5]. Dans cette notion de faciès sont intégrées les caractéristiques climatiques et phytogéographiques des grandes régions d'Afrique sub-saharienne (forêt, savane, sahel, steppes, plateaux et zones montagnardes).

IV. RECEPTIVITE DE L' HOMME AU PALUDISME [2, 4, 71]

IV.1 Résistance innée

Il s'agit d'une propriété inhérente à l'hôte : c'est un état réfractaire d'origine héréditaire et non immunologique. La résistance innée, est spécifique d'une espèce de *Plasmodium*.

IV.1.1 Facteurs de la membrane érythrocytaire inhibant, l'invasion par les mérozoïtes

L'absence d'antigène érythrocytaire du groupe Duffy est un facteur de résistance innée contre le paludisme à *P. vivax*. En effet, ces antigènes qui sont situés à la surface des hématies sont associés à des déterminants constituant des récepteurs spécifiques pour l'adhésion puis la pénétration des mérozoïtes. Ceci explique l'extrême rareté du paludisme à *P. vivax* chez les sujets dépourvus de ces antigènes en Afrique noire.

Par ailleurs, la déformation de globules rouges peut être considérée comme un important facteur de résistance innée. Par exemple, les ovalocytes ont un cytosquelette altéré et résistant à l'invasion du *Plasmodium falciparum*.

IV.1.2 Facteur intra - érythrocytaires

Les hémoglobinopathies (hémoglobine S , C, E, F, la bétathalassemie) ou des déficits en certains enzymes en particulier en glucose – 6 – phosphate – déshydrogénase (G6 PD) peuvent induire une résistance à l'infection palustre.

IV.1.3 Facteurs nutritionnels

La carence en vitamine E entraînerait une lyse prématurée des globules rouges libérant les mérozoïtes immatures.

Ces derniers sont alors incapables de parasiter des nouvelles hématies l'hypo protidémie aurait le même rôle.

IV.2 L'immunité anti – palustre

L'immunité acquise au cours du paludisme est très différente de ce qu'elle est dans d'autres maladies transmissibles.

En effet, il ne s'agit pas d'une immunité totale, stérilisante, définitivement protectrice, mais au contraire d'une immunité coexistant avec un certain degré de parasitisme, ne persistant que quelques mois et qui n'interdit pas les ré infestations, d'où son nom de « prémunition ». Son origine est double, humorale et cellulaire.

IV.2.1 Immunité humorale

Elle joue le rôle principal. Les anticorps plasmodiaux de type Ig M et Ig G) apparaissent rapidement après l'infestation et inhibent la pénétration des mérozoïtes dans de nouvelles hématies.

IV.2.2 Immunité cellulaire

Elle a des origines multiples et elle résulte de l'action des macrophages, des lymphocytes et de la rate.

- ✓ L'activité phagocytaire des macrophages est augmentée.
- ✓ Les lymphocytes T jouent dans l'immunité antipalustre un rôle qui ne se limite pas à leur activité d'aide des lymphocytes B dans la production des anticorps circulants.
- ✓ La rate retient les hématies ou même les parasites libres par un phénomène de « trappage »

V. INDICATEURS EPIDEMIOLOGIQUES [4, 16]

En paludométrie on évalue l'intensité de l'endémie palustre dans une zone donnée à l'aide de certains indices, chez l'homme et chez le vecteur.

Plusieurs moyens ont été proposés avec la détermination de critères cliniques (Indice splénique), parasitologiques (Indice plasmodique et Indice gamétocytaire)

V.1 Chez l'homme

Nous avons trois principaux indices :

⇒ **Indice splénique**: c'est le pourcentage de sujets examinés, présentant une splénomégalie dans une population donnée. Il est apprécié chez les enfants de 2 à 9 ans non soumis à une chimiothérapie. Chez ces enfants l'hypertrophie de la rate reflète mieux que chez l'adulte, les réinfestations successives.

⇒ **Indice plasmodique** : c'est le pourcentage de sujets examinés, présentant des hématozoaires dans le sang périphérique. Il est surtout apprécié chez les enfants de 2 à 9 ans. L'intérêt de la recherche de cet indice est le même que celui de l'indice splénique. Pour éviter toute confusion, cet indice doit préciser le groupe d'âge à partir duquel il a été établi. Il renseigne sur le degré de prémunition ou d'endémicité d'une collectivité.

Ainsi, selon la classification de YAOUNDE (1962) :

- si $IP \leq 10 \%$, on est en zone hypo - endémique
- si $10 \% < IP \leq 50 \%$, on est en zone méso - endémique
- si $50 \% < IP \leq 75 \%$, on est en zone hyper - endémique
- si $IP > 75 \%$ (de 0 à 1 an), on est en zone holo - endémique

⇒ **Indice gamétocytaire** : il s'agit du pourcentage de sujets examinés qui héberge dans leur sang périphérique des formes asexuées (gamétocytes) de *Plasmodium*. Il définit le potentiel infestant vis à vis de la population.

⇒ **Profils séro-épidémiologiques** : ils sont déterminés par la moyenne géométrique des titres d'anticorps spécifiques obtenus chez les sujets donnés. Ils s'intéressent surtout aux primo-infestations.

D'autres indicateurs moins spécifiques sont cependant utilisés :

⇒ **la morbidité, la mortalité, et la létalité**

V.2 Chez le vecteur

⇒ **Indice oocystique**: il représente le pourcentage d'anophèles femelles d'une espèce donnée chez lesquelles une dissection effectuée dans les 24 heures suivant la capture, établit, la présence d'oocystes dans l'estomac.

⇒ **Indice sporozoïtique**: c'est le pourcentage d'anophèles femelles d'une espèce donnée chez lesquelles les glandes salivaires, disséquées dans les 24 heures qui suivent la capture, contiennent des sporozoïtes.

⇒ **le taux d'inoculation entomologique** : c'est le nombre de piqûres reçues par un homme en un temps donné.

VI. SYMPTOMATOLOGIE [12]

Seules les formes asexuées érythrocytaires des plasmodium sont responsables des manifestations cliniques.

Trois aspects cliniques sont couramment rencontrés

VI.1 Paludisme de primo – invasion

Il survient chez le sujet neuf après une période d'incubation silencieuse de 10 à 20 jours.

Dans sa forme typique, le paludisme de primo-invasion se manifeste par :

- Un embarras gastrique fébrile avec douleurs épigastriques, nausées, vomissement, parfois diarrhée.
- Une atteinte de l'état général avec asthénie, courbatures, céphalées souvent intenses.

A ce stade l'examen clinique est négatif.

Traité correctement, l'accès guérit en quelques jours. Non traité il peut guérir spontanément ou évoluer vers l'accès pernicieux si *P. falciparum* est en cause.

A coté de cette forme, il existe des formes rémittentes qui peuvent aussi guérir spontanément ou évoluer sans traitement vers l'accès pernicieux si *P. falciparum* est en cause.

VI. 2 Accès intermittents palustres

Ils surviennent après l'accès de primo invasion ou comme accès de rechute. Il peut apparaître brutalement sans accès fébrile initial.

L'accès précédé de prodromes se déroule en trois stades stéréotypés : stade de frisson, stade de chaleur et stade de sueurs.

Il dure 10 heures. L'accès peut être du type tierce survenant un jour sur deux ou du type quarte (un jour sur trois).

Lorsque la fièvre tierce est régulière, il s'agit d'une tierce bénigne essentiellement due à *P. vivax* ou *P. ovale* ou *P. falciparum*.

Lorsque la fièvre est irrégulière, il s'agit d'une tierce maligne due à *P. falciparum*. La fièvre quarte relève de *P. malaræ*.

VI. 3 Paludisme viscéral évolutif (P.V.E)

Le Paludisme viscéral évolutif ou paludisme chronique survient chez les sujets soumis à des réinfestations répétées. Il se manifeste par une anémie, une splénomégalie et une hyperthermie modérée (38° C).

Traité, la guérison est obtenue rapidement. Non traité, il peut guérir spontanément ou évoluer vers l'accès pernicieux si *P. falciparum* est en cause.

VI. 4 Complications

Deux complications graves dues à *P. falciparum*.

VI.4.1 *L'accès pernicieux*

L'accès pernicieux ou neuropaludisme « Cerebral malaria » est la complication majeure du paludisme à *P. falciparum*.

Il peut survenir à tout âge mais en zone d'endémie il est plus fréquent chez l'enfant de 6 mois à 5 ans.

Son début peut être progressif ou brutal et rapidement s'installe la période d'état avec une triade symptomatique : fièvre, troubles neurologiques et manifestations viscérales.

Le tableau est rapidement d'une extrême gravité : il faut traiter d'urgence.

Correctement traité, la guérison survient sans séquelles, non traité l'évolution est fatale en 2 à 3 jours.

VI.4.2 *La fièvre bilieuse hémoglobinurique*

La fièvre bilieuse hémoglobinurique est devenue exceptionnelle depuis qu'on n'utilise plus la quinine en chimioprophylaxie du paludisme. Elle survient chez les sujets ayant présenté un paludisme à *P. falciparum* soumis à une chimioprophylaxie à la quinine.

Elle se manifeste par un état de prostration, de la fièvre, des vomissements bilieux. Rapidement un ictère hémolytique apparaît avec anémie, collapsus cardio-vasculaire, oligurie et hémoglobinurie.

Affection très grave, d'un pronostic très sévère, la mort survenant dans 30 % des cas.

VII. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE [3, 4, 82, 121, 130]

Seule la mise en évidence d'hématozoaires dans le sang, par des techniques de diagnostic parasitologique direct, permet d'établir un diagnostic de certitude.

L'examen biologique va devoir permettre de savoir: s'il y a présence de *Plasmodium* dans le sang ? si oui, s'agit-il de *P. falciparum* ? et s'il s'agit de *P. falciparum*, quelle est la densité parasitaire ?

Les tests sérologiques n'indiquent qu'un contact avec le parasite et ne présentent qu'un intérêt épidémiologique.

VII.1 Diagnostic parasitologique direct

Le diagnostic microscopique après coloration comprend deux principales techniques couramment utilisées :

- ☞ La goutte épaisse
- ☞ Le frottis sanguin

En dehors de ces deux examens direct, après coloration, et ceux faisant appel à la biologie moléculaire ; il existe une troisième technique très sensible :

- ☞ Le QBC (Quantitative Buffy Coat)

VII.1.1 Goutte épaisse

La goutte épaisse, mise au point par Ronald Ross en 1903, permet l'examen sur une surface de moins de 1 cm² d'une quantité de sang relativement importante (3 à 5 microlitres). Ceci aboutit à une concentration des parasites : le seuil de positivité du test est évalué à 10 à 20 HPM (hématies parasitées par microlitre) [82]

Les inconvénients majeurs de cette technique apparaissent au moment de la lecture : en effet, la morphologie des parasites est modifiée et les hématies parasitées, dont la morphologie est très utile au diagnostic d'espèce, sont lysées. En outre, la numération des hématies parasitées n'est pas non plus réalisable. Seule est envisageable une évaluation très grossière de la parasitémie faisant appel à un rapport parasites/leucocytes.

Nombre de trophozoïtes comptés	
----- x 8000 leucocytes	(résultats exprimé en
200 leucocytes	parasites/ µl de sang)

⇒ Coloration

La coloration se fait au Giemsa, on peut aussi utiliser la coloration de Field qui est plus rapide.

VII.1.2 Le frottis sanguin

La recherche directe du parasite se fait en première intention sur frottis, une technique rapide permettant une identification de l'espèce et le calcul de la parasitémie. [36]

Il s'agit d'un étalement mince d'une goutte épaisse de sang prélevé en général à la pulpe du doigt, à l'aide d'un vaccinostyle, sur une lame de verre.

On peut aussi faire une ponction veineuse, sur tube à hémolyse contenant un anticoagulant, ce qui permet de pratiquer sur le même prélèvement les

examens hématologiques. Chez l'enfant de moins de 6 mois, piquer le gros orteil du pied ou le talon.

Le seuil de détection est de 100 hématies parasitées par microlitre de sang

⇒ **Coloration**

La coloration panoptique au May Grünwald Giemsa reste la méthode de référence. Il existe cependant d'autres méthodes : la coloration au Giemsa et la coloration rapide de Field

⇒ **Numération des plasmodium**

Sur le frottis, la parasitémie ou densité parasitaire est exprimée en pourcentage d'hématies parasitées en établissant le rapport :

$\frac{\text{Nombre d'hématies parasitées décomptées dans N champs microscopiques}}{\text{Nombre d'hématies saines décomptées dans N champs microscopiques}} \times 100$
--

L'examen du frottis permet de détecter des parasitémies de l'ordre de 200 parasites par μl de sang.

VII.1.3 Le QBC

Ce test, présenté pour la première fois en 1986 dans une application essentiellement hématologique et vétérinaire (numération avec approche de la formule), réalise une coloration à l'état frais par l'acridine orange des éléments figurés du sang, séparés en fonction de leur densité par gravimétrie en tube microcapillaire de précision

C'est une méthode d'une sensibilité comparable à celle de la goutte épaisse, avec un seuil de détection très bas: 1 HPM, donc adapté à l'urgence.

VII. 2 Méthodes indirectes

Le diagnostic sérologique n'est pas une méthode d'urgence, mais il est utile dans certaines circonstances : en zone non endémique il permet de déterminer l'étiologie d'une fièvre. Il a surtout un intérêt dans les enquêtes épidémiologiques où il permet d'évaluer l'intensité du contact de la population étudiée avec les Plasmodiums.

Il existe différentes techniques. Seule l'immunofluorescence a vu sa pratique se généraliser ; elle est de valeur inégale selon que l'on utilise un antigène homologue spécifique (frottis de *P. falciparum* surtout, de *P. vivax* , et de *P. malariae*) d'obtention et conservation difficile, ou un antigène hétérologue.

Les autres méthodes immunologiques sont plus rapides à réaliser, nécessitant peu de matériel, et sont à cet égard des techniques d'avenir, notamment en épidémiologie.

Les techniques de détection de l'HRP2 utilisent des bandelettes telles que le parasight, l'ICT.

VII. 2. 1 L'Immunofluorescence indirecte

Ce test permet de visualiser au microscope à l'immunofluorescence indirecte les anticorps sériques du patient par un conjugué fluorescent. Celui-ci se fixant sur les complexes « anticorps sériques – antigènes », homologue (*P. falciparum*, *P. vivax*) ou hétérologues contenus dans un sang parasité établi sur lame.

VII. 2. 2 L'héماغglutination indirecte

Une suspension de globules rouges sensibilisés par un antigène soluble sera additionné au sérum du patient, puis on laisse incuber à 37°C. les globules rouges subissent passivement l'agglutination. La sédimentation se fait par paquets sous forme d'un précipité globuleux à bords réguliers ayant l'aspect d'une membrane friable.

VII. 2. 3 L'immunoenzymologie (ELISA)

C'est une technique récemment appliquée à la sérologie du paludisme. Elle est simple, automatisable, très sensible pour détecter une primo-infestation précoce.

Elle permet l'emploi d'antigènes très purifiés susceptibles de conduire à des résultats spécifiques. La mesure se faisant par lecture au spectrophotomètre.

VII. 2. 4 L'immunoélectrophorèse

Elle permet de déceler des arcs de précipitation.

VII. 2. 5 L'immuno - diffusion

Elle permet la séparation des antigènes plasmodiaux en trois types :

Les antigènes L thermolabiles qui sont détruits à des températures de 56°C.

Les antigènes R thermorésistants qui ne sont détruits qu'à 100° C.

Les antigènes S thermostables qui ne sont pas détruits même à 100°C.

Les méthodes sérologiques ne remplacent en rien l'examen direct du sang, car les anticorps sont parfois absents, ou sont à un taux très faible pour être détecté.

VII. 2. 6 La recherche de l'antigène HRP2

Les tests sont fondés sur la détection de l'Histidine Rich Protein 2 (HRP2) qui est une glycoprotéine spécifique de *Plasmodium falciparum* exposée à la surface du globule rouge parasité et, en même temps, activement sécrétée par les parasites intracellulaires.

Sa sécrétion est constante tout au long du cycle érythrocytaire du parasite avec un pic au moment de la rupture des schizontes.

L'HRP2 a été isolée sur des souches de *Plasmodium falciparum* d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du sud.

L'ensemble de ces critères a conduit au choix de l'HRP2 comme marqueur de l'infection par *Plasmodium falciparum*.

D'autres tests sont en préparation, pour certains en phase d'évaluation. La cible peut être la recherche des LDH plasmodiales.

VII. 2. 6. 1 Présentation des tests

α Le test parasight®-F

Le test ParaSight®-F (Becton Dickinson Tropical Diseases Diagnostics, Sparks, MD, USA) est un test manuel sur bandelette. Il nécessite l'utilisation successive de 3 réactifs.

Le dépôt d'une quantité de sang dilué sur une bandelette de papier montrant une bande violette visible à l'oeil nu en quelques minutes [103]

☞ **Le test MalaQuick®**

Le test MalaQuick® (ICT Diagnostics, Sydney, Australie, distribué en France par les Laboratoires Fumouze) possède l'avantage d'une utilisation simplifiée. Il est conditionné en trousse de 2, 3, 5 et 25 tests et n'utilise qu'un seul réactif liquide.

VII. 3 L'apport de la biologie moléculaire

Ces techniques sont encore du domaine du laboratoire de recherche et elles ne sont pas adaptées à l'urgence.

VII. 3. 1 Le PCR (Polymérase Chain Reaction)

Ce test améliore les techniques d'hybridation en amplifiant sélectivement une région du génome du parasite.

C'est un processus d'amplification de l'ADN parasitaire utilisant des stades de dénaturation, d'extension et d'amplification du matériel génétique

VII. 3. 2 La technique des sondes nucléiques

Elle permet de reconnaître, dans un prélèvement de sang, les fragments du génome du parasite dont on soupçonne la présence chez le patient. On utilise pour cela des sondes marquées au phosphore radioactif ^{32}P

VIII. LES ANTIPALUDIQUES

Plusieurs médicaments actifs sur les plasmodiums, sont actuellement utilisés. Et, selon leur mode d'action ces médicaments peuvent être classés en deux grandes groupes : les schizontocides et les gamétocytocides.

VIII.1 Les schizontocides

Le groupe des schizontocides est séparable en deux parties.

✎ **Les médicaments du premier sont d'action rapide**,

ils comprennent :

♦ **des antipaludiques naturels**, la quinine et les dérivés du quingaoshu, ou artémisinine (dihydroartémisinine, l'artéméther liposoluble et l'artésunate hydrosoluble).

L'artéméther existe aussi en association à dose fixe avec la luméfantrine, c'est le Coartem®

♦ **des antipaludiques de synthèse** les amino-4-quinoléines (chloroquine, amodiaquine), et deux amino-alcools (méfloquine, halofantrine).

La méfloquine est également présentée en thérapeutique en association avec d'autres molécules à action antipaludique, ce qui permet de diminuer la quantité de méfloquine administrée et donc de réduire significativement les effets secondaires. On peut citer :

- Le Fansimef®, Lab. Roche : association de Fansidar® (sulfadoxine + pyriméthamine) et de méfloquine, utilisée en thérapeutique [76, 47] et en prophylaxie [24, 119].

- L'association dihydroartémisinine - méfloquine [90].
- L'association méfloquine - tétracycline [23]

☞ **Le deuxième groupe contient des produits d'action plus lente.**

Il s'agit :

- ♦ **des antifoliques**, (sulfones ; et sulfamides), et
- ♦ **des antifoliniques** (diguanydes, proguanil, et diaminopyrimidines : pyriméthamine et triméthoprime).

Les produits de ce groupe sont surtout utilisés en association, permettant ainsi, par potentialisation, une efficacité meilleure, mais aussi une réduction des effets secondaires avec la diminution des doses des produits associés. On a les associations suivantes:

- sulfadoxine et pyriméthamine (Fansidar®),
- sulfones et pyriméthamine forme le (Maloprim®),
- association chloroquine- proguanil (Savarine®).

Le traitement S.P.Q est composé de sulfamides, de pyriméthamine et de quinine

Parmi tous ces produits, seule la chloroquine et l'association sulfadoxine et pyriméthamine nous ont intéressé dans notre étude.

☞ **La chloroquine :**

Elle est employée sous forme de sulfate ou de diphosphate.

C'est le médicament de première intention dans le traitement de l'accès palustre simple.

Le sulfate de chloroquine (NIVAQUINE®, Laboratoires Spécia, Groupe Rhône-Poulenc Rorer) est encore utilisé en comprimé ou, chez l'enfant en sirop,

à la dose thérapeutique de 10mg/kg/jour les premier et deuxième jour et de 5mg/kg le troisième jour dans le traitement des formes simples sans vomissement.

La chloroquine a une action schizonticide sur les souches de *Plasmodium falciparum* sensibles, ainsi que sur l'ensemble des souches de *Plasmodium vivax* (sauf quelques exceptions), de *Plasmodium ovale* et de *Plasmodium malariae*.

Elle est utilisée pour la prophylaxie du paludisme dans les zones où *Plasmodium falciparum* est chloroquino-sensible et dans les aires de distribution des trois autres espèces plasmodiales.

Aux doses curatives, les effets indésirables sont mineurs : goût amer désagréable, nausées, anorexie. le prurit survient chez certains sujets, le plus souvent au cours du traitement curatif, peut être gênant. La chloroquine peut être également responsable de troubles transitoires de l'accommodation visuelle. Après cinq années de prise continue, un examen ophtalmologique sera demandé chaque année. Une rétinopathie peut être définitive au-delà de 75g au total chez l'adulte[30].

Présentation :

- comprimés sécables dosés à 100 mg (étuis de 20 ou de 100 comprimés)
- comprimés pelliculés dosés à 300 mg (étui de 4 comprimés)
- sirop dosé à 5 mg/ml (flacon de 150 ml, avec cuillère mesure de 5 ml)
- ampoules injectables dosées à 100 mg/ampoule (boîte de 5 ampoules)

De nombreuses formes génériques existent.

Autres dénominations commerciales : NIVAQUINE FORTE®, RESORCHINE®, MELUBRIN®, MALACHLO®.

Sulfadoxine – pyriméthamine

FANSIDAR®, Laboratoires Roche

Cette association a été utilisée dans notre étude comme antipaludéen de deuxième intention après la chloroquine.

Chaque comprimé de cette association contient : 500 mg de sulfadoxine, et 25 mg de pyriméthamine

Présentation :

- Comprimés à 500 mg de sulfadoxine et 50 mg de pyriméthamine (étui de 3 comprimés)
- Ampoules pour injections intramusculaires de 2 ml contenant 400 mg de sulfadoxine et 20 mg de pyriméthamine (boîte de 2 ampoules)

Action:

Cette association agit par inhibition des enzymes du métabolisme nucléotidique de *Plasmodium falciparum* : les cibles sont la synthétase de l'acide dihydrofolique et les analogues des purines (pyrimidines) qui interviennent au niveau des enzymes de la voie alternative.

Indication:

Le FANSIDAR® n'est indiqué qu'à titre curatif à dose unique dans le Traitement de l'accès palustre à *Plasmodium falciparum*. La voie IV est contre indiquée.

Dans les formes graves, on préconise d'associer la quinine par voie intraveineuse.

Grossesse et allaitement:

En fin de grossesse il faut éviter les sulfamides en raison du risque d'ictère néonatal. L'allaitement est déconseillé en raison du passage des sulfamides dans le lait.

Effets indésirables :

- Troubles gastro-intestinaux.
- Réactions cutanées allergiques graves : syndrome de Lyell (ou de Stevens-Johnson) [13, 78, 110].
- Anomalies hématologiques : leucopénie, thrombopénie, anémie mégaloblastique.

Remarques générales :

- A cause du risque du syndrome de Lyell, les francophones ne préfèrent pas l'utiliser en prophylaxie du paludisme ou lors de la grossesse [35, 21] alors que les anglophones l'utilisent à grande échelle dans la prophylaxie du paludisme [117], même chez la femme enceinte [102]. En prophylaxie, la posologie recommandée est d'1 comprimé/semaine, mais de très nombreuses variantes existent[102].
- Cette association d'antipaludiques reste encore remarquablement efficace, même si des résistances commencent à être décrites un peu partout[115, 83, 95, 48, 65].

VIII.2 Les gamétocytocides

Les gamétocytocides actuellement connus sont les amino-8-quinoléines, toutes toxiques donc peu employées. Néanmoins, elles sont les seules à avoir réellement un effet sur les gamétocytes de *Plasmodium falciparum*. Ils agissent aussi sur les formes intra hépatiques.

Ces médicaments agissent en inhibant la transformation des gamétocytes du sang humain en gamètes chez l'anophèle. Ils ont donc le pouvoir de rompre le cycle de transmission du paludisme.

La Primaquine découverte en 1946 reste le gamétocytocide de référence.

VIII.3 Les antibiotiques

Les antibiotiques (cyclines : la clindamycine et l'azithromycine) sont faiblement et lentement schizontocides, on les associe parfois à la quinine dans certaines régions où la sensibilité de *P. falciparum* à la quinine est diminuée [79].

Les cyclines sont aussi contre-indiqués chez les enfants de moins de 8 ans et chez les femmes enceintes.

Les fluoroquinolones ; testés depuis 1998 dans les cas de résistance pour un traitement qui s'étend sur trois jours, n'ont pas confirmé d'intérêt antipaludique[79]

VIII.4 Autres produits

☞ *L'Atovaquone*

C'est une molécule antipaludique connue depuis les années 40, présentant un large spectre d'activité antiprotozoaire. Elle ne peut être utilisée seule, elle est associée au proguanil sous le nom de Malarone® [79].

En Afrique, cette association est indiquée dans le traitement de l'accès palustre simple.

☞ *La pyronaridine (MALARIDINE®)*

Synthétisée en Chine en 1970, la pyronaridine s'est révélée hautement active comme schizonticide sanguin sur *Plasmodium falciparum* [113], *Plasmodium ovale* [114] et *Plasmodium malariae* [114].

Cet antipaludique est utilisé avec succès en Chine depuis plus de 20 ans. En Afrique, il n'a été évalué qu'au Cameroun en 1995 [113], où son intérêt a été parfaitement démontré.

Il est utilisé dans le traitement de l'accès palustre résistant à la chloroquine

IX. PHARMACORESISTANCE(*la chloroquinorésistance*)

[31, 38, 42, 56, 104, 107]

IX. 1 Définition [40]

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), « *la pharmacorésistance est l'aptitude d'une souche de parasites du paludisme à survivre ou à se reproduire malgré l'administration et l'absorption d'un médicament employé à des doses égales ou supérieures aux doses ordinairement recommandées, mais comprise dans les limites de tolérance du sujet* »

IX. 2 Historique [34, 128]

La résistance des plasmodiums humains aux antipaludiques de synthèse a été observée peu de temps après que l'usage de ces médicaments s'est répandu.

La chloroquinorésistance est apparue en 1960 en Amérique du Sud (frontière Colombie – Venezuela) et en 1962 – 1963 en Asie du Sud-Est. Puis ce phénomène s'est étendu géographiquement et quantitativement sur ces deux continents.

Ensuite, le sous continent Indo-Pakistanaï fut atteint. Mais en Afrique, les souches chloroquinorésistantes n'apparaissent seulement qu'en 1978. l'Afrique de l'Est (Kenya, Tanzanie, Burundi) était la première victime. Ensuite l'extension s'est faite vers l'Afrique Centrale en 1985 pour atteindre l'extrémité Ouest vers 1988.

IX. 3 Mécanisme de la chloroquinorésistance [72]

Toutes les souches de *P. falciparum* chloroquinorésistantes étudiées à ce jour ont montré un déficit de la concentration du médicament dans la vacuole digestive.

Ce défaut apparaît en rapport avec une sortie (efflux) rapide de la chloroquine hors de cette vacuole et non avec une diminution de la pénétration. Bien qu'on puisse éliminer une diffusion passive pH dépendante, l'hypothèse privilégiée pour expliquer cet efflux est celle d'une liaison de la chloroquine avec une ou plusieurs glycoprotéines de transfert, dont la P. glycoprotéine 170 (Pgp).

Cette protéine située dans le membrane de la vacuole digestive, a une structure de canal transmembranaire, ce qui confère probablement une capacité de transport des molécules pour lesquelles elle a une affinité suffisante, cet afflux étant ATP dépendant et probablement calcium indépendant [18, 32].

Les gènes qui codent pour la Pgp sont appelés gène MDR (multidrug resistance). Ils sont au nombre de deux chez l'homme comme chez le *P.falciparum* et nommés chez ce dernier Pfmdr 1 et Pfmdr 2 (*Plasmodium falciparum* multidrug resistance 1 et 2). La Pgp de *Plasmodium falciparum* ou Pgh-1 est codée par le gène Pmfd1 qui siège sur le chromosome 5

IX. 4 Principales causes de l'apparition et de la propagation

- ☞ La pression médicamenteuse
- ☞ La présence d'une population non immune ou à faible niveau d'immunité
- ☞ La densité anophélienne vectrice
- ☞ L'avantage biologique des souches chloroquinorésistantes

- ☞ La mobilité des populations
- ☞ La faiblesse des moyens économiques des services de santé et des populations

IX.6 Evaluation de la pharmacorésistance [116,105,73, 98]

IX. 6.1 Test in vitro

Les tests in vitro apprécient la capacité des doses croissantes d'un antipaludique à empêcher la formation de schizontes (24 à 48 heures d'incubation) ou des générations asexuées successives (48 à 96 heures), ces épreuves présentent le grand avantage de réduire la part due à l'immunité dans la réponse apparente au médicament et d'être plus souples pour le patient (un seul prélèvement suffit, déplacement multiple non nécessaire). Plusieurs tests ont été mis au point : la macrotechnique de l'OMS et les microtechniques

a) La macrotechnique de l'OMS

Elle est basée sur les travaux de Rieckmann et coll..(1973), elle permet d'évaluer la sensibilité in vitro de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine et à la méfloquine.

Elle s'applique à des échantillons de sang dont la parasitémie est de 400 à 100.000 P/ μ l, et présentant des trophozoïtes âgés de *Plasmodium falciparum*.

⇒ Interprétation

- inhibition complète de la maturation des schizontes dans les flacons contenant 1 nmole/l de chloroquine : sensibilité à la chloroquine.
- maturation des schizontes dans les flacons contenant 1,5 nmole/l ou plus : résistance à la chloroquine.

⇒ **Inconvénients**

- ▶ nécessité d'utiliser une quantité importante de sang : 10 ml par antipaludique testé
- ▶ le sang testé doit contenir une prédominance de trophozoïtes âgés.

b) Les microtechniques

- Le microtest de Rieckmann (1978) ;
- Le microtest de Trager et Nguyen-Dinh (1978) ;
- Le microtest isotopique de Desjardins et coll..(1979)
- Le microtest de Deloron et Le Bras (1983)
- Le microtest colorimétrique (Deli – test) de Druilhe (2000)

Réalisées sur des plaques de microtitration, elles sont basées sur la méthode de culture in vitro de *Plasmodium falciparum* mise au point par Trager et Jensen (1976).

Par rapport à la macrotechnique, elles ont l'avantage de n'utiliser que de faibles quantités de sang, ce qui permet de faire des tests en double ou triple exemplaire et de tester simultanément plusieurs antipaludiques.

Elles consistent à cultiver des souches de *Plasmodium falciparum* isolées de sujets impaludés, en présence de concentrations croissantes d'un antipaludique schizonticide pendant la durée d'un cycle évolutif du parasite ou une partie de ce cycle. La souche étudiée est dite résistante lorsque sa croissance n'est plus inhibée au delà d'une certaine concentration de l'antipaludique.

Il existe différentes techniques reposant sur ce principe. Les différences concernent les points suivants :

☞ **Le prélèvement**

- ◆ Sa nature : sang capillaire ou veineux ; sang total ou sang lavé
- ◆ Le taux d'hématocrite de la suspension d'hématies : 1,5 à 50% et le volume mis en culture : 50 à 70 µl.

☞ **L'antipaludique**

- ◆ Le nombre de mesures effectuées pour une même dose d'antipaludique : 1 à 3
- ◆ Le mode de distribution de l'antipaludique : au moment de l'emploi ou plaques prédosées

☞ **Les modalités de culture**

- ◆ L'atmosphère de l'incubation : cloche à bougie ou proportion définie variable d'O₂ et de CO₂
- ◆ La durée de l'incubation : 24 à 48 heures

☞ **Le mode d'évaluation de l'efficacité de l'antipaludique :**

- ◆ Comptage des parasites ayant atteints le stades de schizontes (tests microscopiques)
- ◆ Mesure de la quantité d'hypoxanthine tritiée incorporée par les parasites (tests isotopiques)
- ◆ Mesure de l'activité enzymatique de la LDH parasitaire (nouveau test colorimétrique)

☞ **L'expression des résultats :**

- ◆ CI50 (concentration inhibitrice de 50% des parasites)
- ◆ CMI (concentration minimale inhibitrice)

IX. 6.2 Test in vivo

IX. 6.2.1 Les premiers tests in vivo

Ces tests permettent une évaluation directe de la valeur des différents schémas thérapeutiques dans le traitement de l'accès palustre. On distingue :

- **Epreuve standard type OMS (1973) :**

Cette épreuve consiste à mesurer le temps de défervescence et de disparition de la parasitémie par des contrôles journaliers pendant sept jours après le premier jour du traitement. Elle peut être pratiquée sur n'importe quel sujet à condition qu'il ne soit atteint d'un paludisme grave.

- **Epreuve prolongée de 28 jours**

Elle consiste à faire un contrôle de la parasitémie chaque jour durant 7 jours, puis à J14 et à J28. le malade doit présenter un accès simple à *P.falciparum*, il ne doit pas vomir, ni présenter de troubles de l'absorption digestive. La posologie de la chloroquine est de 25mg/kg répartis sur 3 jours.

Ces premiers tests *in vivo*, distinguent trois niveaux de résistance appelés RI, RII, et RIII. (figure X)

☞ **Résistance de type I = RI**

☞ **Résistance de type II = RII**

☞ **Résistance de type III = RIII**

IX. 6.2.2 Le nouveau test in vivo de l'OMS (1996)

Les premiers tests avaient certaines inconvénients :

- ✓ nécessité d'effectuer un examen de sang chaque jour pendant 7 à 10 jours (J1 à J7, J14, J21 et J28).
- ✓ leur interprétation ne tenait pas compte du degré d'endémicité de l'infection palustre dans la localité où le test à été réalisé.
- ✓ les tests avec les autres antipaludiques bien que pouvant être réalisés selon le même protocole n'ont pas été standardisés par l'OMS.

Les nouveaux protocoles permettent de pallier à ces inconvénients. Homologués par l'OMS, ils évaluent la réponse parasitologique et la réponse clinique et sont interprétables dans toutes les zones géographiques quel que soit le niveau d'endémicité.

a) Sélection des patients

⇒ Critères d'inclusion

- Etre âgé de plus de 6 ans
- Monoinfection à *P.falciparum*
- Parasitémie comprise entre 1000 et 100.000 P/ μ l
- Température $>37,5^{\circ}\text{C}$ et $<39,5^{\circ}\text{C}$
- Capacité à venir aux visites de suivi et accès facile à des structures de soins
- Consentement éclairé du patient.

⇒ Critères d'exclusion

- Présence d'un signe de gravité ou d'un paludisme compliqué
- Grossesse

- malnutrition sévère
- autre maladie grave
- maladie fébrile autre que le paludisme

b) Protocole

A J0 on note les signes cliniques, la température axillaire, le poids du sujet et la parasitémie puis on administre *per os* le médicament à la posologie adaptée. Aux jours J 1, J 2, J 3, J 7, J 14, J 21 et J 28, on effectue en double exemplaire un frottis sanguin et une goutte épaisse qu'on colore au Giemsa. Les préparations sont ensuite examinées au microscope pour identification du plasmodium et détermination de la parasitémie par numération des trophozoïtes. Outre cet examen parasitologique, on note les signes cliniques éventuellement présentés par les patients et on mesure leur température axillaire.

Le test est limité à J 14 dans les zones de transmission palustre intense, pour éviter une possible réinfestation qui fausserait l'interprétation du test.

Le test de 28 jours est applicable dans les zones où la transmission est faible ou modérée et pour les antipaludiques d'élimination lente comme la méfloquine.

c) Interprétation des résultats

Il existe trois catégories de réponse au traitement :

- ☞ ***Réponse clinique et parasitologique adéquate***
- ☞ ***Echec thérapeutique précoce (ETP)***
- ☞ ***Echec thérapeutique tardif (ETT)***

B -

GÉNÉRALITÉS

SUR L'INFECTION

A VIH/SIDA

CHAPITRE I : LE VIH /SIDA EN GENERAL

1. HISTOIRE NATURELLE ET CLASSIFICATION

1.1. Histoire naturelle de l'infection à VIH/SIDA [9,33, 118]

L'histoire naturelle de l'infection commence chez l'homme lorsque le virus (VIH-1 ou VIH-2) pénètre dans l'organisme. Le SIDA est la dernière étape de l'infection.

L'action de ces virus dans l'organisme, notamment sur le système de défense immunitaire crée un ensemble de signes cliniques, biologiques et immunologiques qui succèdent habituellement dans un ordre stéréotypé, habituel et prévisible : c'est l'histoire naturelle de l'infection à VIH qui évolue en quatre étapes.

- ☞ Phase de primo-infection
- ☞ Phase de séropositivité asymptomatique
- ☞ Phase de lymphadénopathie généralisée et persistante
- ☞ Phase de SIDA

1.1.1. La primo-infection

Elle correspond à la réaction du corps à l'introduction du virus. Elle est cliniquement asymptomatique dans 30 à 50% des cas suivant le stade de l'infection du donneur.

Les signes cliniques surviennent 2 à 6 semaines après la contamination. Cette phase réalise le plus souvent un syndrome mononucléosique non spécifique qui se traduit par la présence d' adénopathies disséminées, d'une

fièvre pouvant durer jusqu'à un mois, de myalgie, d'une éruption cutanée de type morbiliforme ou plus rarement d'urticaire, d'une pharyngite érythémateuse, d'arthralgie, des céphalées, des signes neurologiques.

Quelle que soit leur gravité ces manifestations vont disparaître spontanément de quelques semaines à un mois.

Biologiquement, on observe une élévation des transaminases et/ou des phosphatases alcalines leucocytaires, une dépression transitoire et profonde des lymphocytes T CD4.

L'apparition des anticorps anti-VIH se fait dans cette phase de primo-infection, où le virus a pu être isolé dans le sang, le liquide céphalo-rachidien et la moelle.

1.1.2. La phase de séropositivité asymptomatique

Suivant la phase de primo-infection s'installe une phase de latence clinique, asymptomatique mais contagieuse, on détecte la présence d'anticorps dans la sang.

Cette phase à durée variable (3 à 10 ans), avec un risque de contamination élevé, varie selon :

- ☞ *le type de virus* : elle est beaucoup plus longue pour le VIH-2 que pour le VIH-1
- ☞ *le mode de transmission* : l'apparition du SIDA est plus rapide en cas de contamination par voie sanguine.
- ☞ *le genre* : les grossesses aggravent l'évolution de la maladie.
- ☞ *l'âge* : la progression de la maladie est beaucoup plus rapide chez les enfants.

- ☞ *des cofacteurs* : les IST, le stress, la malnutrition, l'alcool, la drogue sont autant de facteurs qui favorisent l'infection à VIH.
- ☞ *la prise en charge thérapeutique* : à l'heure actuelle les médicaments antirétroviraux retardent de façon significative l'apparition de manifestations cliniques.

Parmi les infectées par le virus, certaines n'évoluent pas vers les autres stades de la maladie. C'est l'origine des personnes asymptomatiques à long terme (12 – 15 ans) qui défient toutes les prévisions quant à l'évolution péjorative de la maladie.

1.1.3. La phase de lymphadénopathie généralisée et persistante

Elle est marquée par la présence d'au moins deux adénopathies extra-inguinales (de 1 cm ou plus) évoluant depuis plus de quelques mois sans cause évidente locale ou générale les expliquant.

1.1.4. La Phase de SIDA

la forme mineure

C'est le stade du syndrome constitutionnel avec fièvre, amaigrissement, diarrhée liquidienne, asthénie, candidose bucco œsophagienne.

la forme majeure

Elle correspond à la survenue d'infections opportunistes parasitaires ; bactériennes, virales, fongiques et néoplasiques. Cette phase est de durée variable et évolue inéluctablement vers la mort.

1.2. Classification de l'infection à VIH/SIDA

1.2.1. *Classification CDC* [118]

C'est une révision de 1993 du système de classification de l'infection à VIH pour les adultes et les adolescents.

Cette classification distingue trois catégories cliniques : A, B et C. Ces catégories sont subdivisées en sous catégories en fonction du taux des CD4, le plus bas, mais pas nécessairement le dernier.

Aux Etats-Unis, le SIDA est défini par l'entrée dans une des catégories A3 – B3 ou C alors qu'en Europe, en France seule la catégorie C est considérée comme pouvant entrer dans la définition du SIDA.

1.2.2. *Classification OMS* [118]

Etablie en 1990, elle distingue quatre stades cliniques de gravité croissante. C'est une classification relativement complexe et peu utilisée.

1.2.3. *Classification de Bangui* [93, 57]

Il s'agit d'une classification clinique élaborée en 1985. Chez l'adulte le SIDA est défini par l'existence de deux signes majeurs associés à au moins un signe mineur, en l'absence de causes connues d'immunodépression telles que le cancer et la malnutrition sévère.

Tableau I

Définition du SIDA (CDC 1993) [118]

Nombre de lymphocytes TCD4+	<i>Formes cliniques</i>		
	(A) <i>Asymptomatiques. Primo-infection ou P.G.L.</i>	(B) <i>Symptomatiques sans critères (A) ou (C)</i>	(C) <i>SIDA</i>
> 500/mm ³	A ₁	B ₁	
200 - 499/mm ³	A ₂	B ₂	
< 200/ mm ³	A ₃	B ₃	

Il existe une correspondance entre la valeur absolue et le pourcentage de CD4.

CD4 > ou = 500/mm³: CD4 > ou = 29%

CD4 200 – 499/ mm³: CD4 = 14 – 28%

CD4 < 200/ mm³: CD4 <14%

Tableau II

La classification en stades cliniques proposée par l'OMS[118]

Stade clinique 1

Patient asymptomatique
Adénopathies persistantes généralisées
Degré d'activité 1 : activité normale

Stade clinique 2

Perte de poids < 10% du poids corporel
Zona (au cours des 5 années précédentes)
Manifestations cutané-muqueuses mineures (dermite séborrhéique, prurigo, onyxis mycosique, ulcérations buccales récidivantes, chéilite angulaire).

Stade clinique 3

Perte de poids > 10% du poids corporel
Diarrhée inexplicée > 1 mois
Fièvre prolongée > 1 mois
Candidose buccale
Leucoplasie chevelue buccale
Tuberculose pulmonaire dans l'année précédente
Infection bactérienne sévère
Et/ou degré d'activité 3 : patient alité plus de 50% du temps au cours du mois précédent.

Stade clinique 4

Syndrome cachectisant dû au VIH
Pneumocystose pulmonaire
Toxoplasmose cérébrale
Cryptosporidiose avec diarrhée > 1 mois
Cytomégalovirose autre qu'hépatique, splénique ou ganglionnaire
Herpes virose cutané-muqueuse > 1 mois ou viscérale
Leucoencéphalite multifocale progressive
Mycose endémique généralisée (histoplasmoses, coccidioidomycose)
Candidose oesophagienne, trachéale, bronchique ou pulmonaire
Mycobactériose atypique disséminée
Septicémie à salmonelle mineure
Tuberculose extra pulmonaire
Lymphome malin
Sarcome de Kaposi
Encéphalopathie à VIH Et/ou degré d'activité 4 : patient alité plus de 50% du temps au cours du mois précédent (diagnostic certain des présomptifs)

Tableau III

Classification de Bangui [33, 57]

Critères d'inclusion		Score
<i>Critères majeurs</i>	Amaigrissement > 10% poids	2
	Fièvre permanente	3
	Diarrhée > 1 mois	3
<i>Critères mineurs</i>	Asthénie prolongée	4
	Candidose bucco pharyngée	4
	Herpes cutanée chronique ou récidivante	4
	Dermatose généralisée prurigineuse	4
	Zona (récidivant)	2
	Adénopathies généralisées	2
	Signes neurologiques	2
	Toux, pneumopathie > 1 mois	2
	Kaposi généralisée	12

2. LES VIRUS DU SIDA [9, 112]

2.1. Classification des rétrovirus et VIH

Les rétrovirus sont très répandus dans différentes espèces animales, ils possèdent un ARN de haut poids moléculaire et sont caractérisés par une enzyme, la transcriptase reverse, qui transcrit l'ARN viral en ADN "proviral" permettant l'intégration du génome viral dans la cellule infectée.

Les rétrovirus comprennent trois groupes.

- **Les Onchovirus** : induisant des tumeurs ou leucémies ; chez l'homme sont identifiés HTLV I et HTLV II ;
- **Les lentivirus** : cytopathogènes,
 - responsables d'infections (exemple : pneumopathie du mouton, arthrite du cheval, encéphalite de la chèvre,)
 - virus des immunodéficiences : des simiens (SIV), des félins (FIV), des bovins, (BIV), des humains (HIV). Deux sérotypes de VIH sont actuellement connus : VIH-1 le plus répandu actuellement (Europe, Amérique, Asie, Afrique) et VIH-2 présent surtout en Afrique de l'Ouest.
- **Les spumavirus** : identifiés chez de nombreux animaux, sont sans pouvoir pathogène ou de pouvoir pathogène inconnu chez l'homme

2.2. Propriétés structurales du VIH

L'ARN du virus est constitué de plusieurs gènes, dont trois principaux :

- ✎ *Le gène gap* qui code pour la synthèse des protéines internes du virus, de capsid et de core (p13, p18, p24) ;
- ✎ *Le gène pol* qui code pour les protéines (enzymes) nécessaires à la réplication virale (transcriptase reverse, intégrase et protéase ;)
- ✎ *Le gène env* qui code pour les protéines d'enveloppe (gp41, gp120, gp160)

D'autres gènes sont particulièrement étudiés, comme le *gène nef*, qui commande la synthèse d'une protéine capable de faire disparaître les récepteurs CD4 des cellules infectées et de jouer un rôle important dans la progression vers la maladie ; ou le *gene tat*, qui accélérer la synthèse des particules virales.

2.3. Les cibles du virus

Ce sont essentiellement les cellules portant à leur surface la molécule CD4 de haute affinité pour le gp120 (glycoprotéine d'enveloppe du virus).

Ces cellules sont surtout représentées par les lymphocytes TCD4⁺ mais aussi les monocytes macrophages, les cellules folliculaires dendritiques, les cellules de Langerhans cutanées et les cellules micro gliales cérébrales.

2.4. La réplication virale

La réplication virale se fait en plusieurs étapes

- ☞ Le HIV se fixe à ses cellules cibles, en particulier lymphocytes CD4 par Sa glycoprotéine 120 (gp120). Et la pénétration se fait par fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire ou par endocytose puis lyse de l'enveloppe.

- ☞ Synthèse d'ADN proviral, à partir du brin d'ARN viral, grâce à la transcriptase inverse portée par le virus qui est activée dans le cytoplasme de la cellule hôte.

NB : la transcriptase inverse ne suit pas en continu le brin d'ARN viral. Elle "saute" d'un point à un autre. Ce serait la cause des très nombreuses erreurs de lectures et donc des très nombreuses mutations de ces virus

- ☞ Intégration de l'ADN proviral au génome de la cellule hôte grâce à l'endonucléase virale

- ☞ Transcription de l'ADN proviral en ARN génomique par l'ARN polymérase de la cellule hôte ; cette synthèse est contrôlée par les gènes *tat* et *rev* ; l'ARN migre du noyau vers le cytoplasme.

- ☞ Synthèse des protéines virales

- ☞ Assemblage des protéines virales grâce à des protéases et encapsidation de l'ARN conduisant à la formation de nouvelles particules virales infectieuses

Les virus constitués migrent par bourgeonnement à travers la membrane cellulaire qui forme leurs enveloppes...puis le cycle recommence.

2.5. Variation génétique

- La variation génétique est générale pour les lentivirus.
- Elle porte essentiellement sur les *gènes env* qui code pour la gp120 qui est la cible des anticorps neutralisants. Ils sont "neutralisants" en empêchant la fixation du virus sur le récepteur CD4 de sa cellule cible.
- Le taux d'erreur de transcription est 1/10000 bases, ce qui est considérable. C'est la cause de la très grande variabilité génétique des HIV, tant d'un individu à l'autre que chez un seul et même individu : on n'est pas infecté par un HIV mais par plusieurs, génétiquement différents et, rapidement, on en héberge un plus grand nombre encore. Ceux échappant aux anticorps neutralisants du porteur sont sélectionnées ; la sélection joue encore et ainsi de suite...
- La divergence sur *Env* atteint 30% d'un isolat à l'autre. Elle est plus importante d'un continent à l'autre qu'entre individus géographiquement proches.

2.6. Transmission du VIH /SIDA

Le VIH se transmet surtout par le sang, le sperme, les sécrétions vaginales et le lait maternel car le virus y est en grande quantité. Le virus est présent dans le liquide séminal, mais aussi dans le sang des règles.

Il est rare dans le liquide bronchique, les liquides céphalo-rachidien, les larmes et salive des séropositifs.

Pour pénétrer dans l'organisme le virus doit trouver une porte d'entrée : rapports sexuels non protégé, la lésion des muqueuses (gland, anus, bouche, vulve), plaies ou piqûres. Ainsi les principaux comportements à risque sont :

- ☞ les relations sexuelles sans préservatif avec pénétration anale ou vaginale sont le mode majeur de transmission du virus, autant pour les hommes que pour les femmes.
- ☞ Le risque d'infection par le VIH augmente avec le nombre de partenaires, mais un seul rapport non protégé peut suffire pour être contaminé
- ☞ Les seringues ou aiguilles souillées de sang peuvent, si elles sont partagées, transmettre le virus : transfusion, toxicomanie.
- ☞ La transmission du virus d'une mère contaminée à son enfant se fait pendant la grossesse ou au cours de l'accouchement. Un enfant sur cinq né de mère contaminée deviendra séropositif. certaines études semblent en effet démontrer que le taux de contamination peut être fortement abaissé lorsqu'un traitement par AZT, administré pendant la grossesse et durant les six premières semaines de vie du nouveau-né, est associé à un accouchement par césarienne. On proscrira l'allaitement maternel.

le VIH est sensible aux agents physiques et chimiques: il est détruit par la chaleur au-dessus de 56 °C, l'alcool, l'eau de Javel et la plupart des détergents; en revanche, il résiste au froid et aux ultraviolets.

le risque de transmission est supérieur d'un homme séropositif vers une femme séronégative à celui qui existe d'une femme séropositive vers un homme séronégatif.

3. DIAGNOSTIC ET SUIVI BIOLOGIQUE DE L'INFECTION A VIH

Les méthodes les plus couramment utilisées sont indirectes: ce sont les anticorps produits par l'organisme qui sont détectés.

Si le test est négatif, la personne est dite séronégative; les «faux négatifs» sont dus au fait que l'examen est fait trop tôt après la contamination; en effet, les anticorps apparaissent un à trois mois après la contamination.

Si le test est positif, il est indispensable de le confirmer par une autre technique, tel le western blot, qui détecte plus finement les anticorps dirigés contre les différentes protéines constitutives du virus.

Il est nécessaire de faire une confirmation sur un deuxième prélèvement avant d'affirmer la séropositivité. Cette dernière est irréversible.

La seule exception concerne les enfants nés d'une mère séropositive: en effet, ils sont tous porteurs des anticorps de la mère, lesquels vont progressivement disparaître chez ceux qui n'ont pas été contaminés par le virus, et qui deviennent définitivement séronégatifs vers le quatorzième mois de la vie. Cependant, certains d'entre eux resteront séropositifs, car ils sont infectés par le virus et vont fabriquer leurs propres anticorps. Des techniques directes de détection du virus sont utiles, notamment chez ces enfants, pour un diagnostic plus précoce.

Le test est obligatoire pour les dons de sang ou d'organes. Il est proposé avant une intervention chirurgicale, aux femmes enceintes et avant le mariage.

3.1. Diagnostic indirect [99]

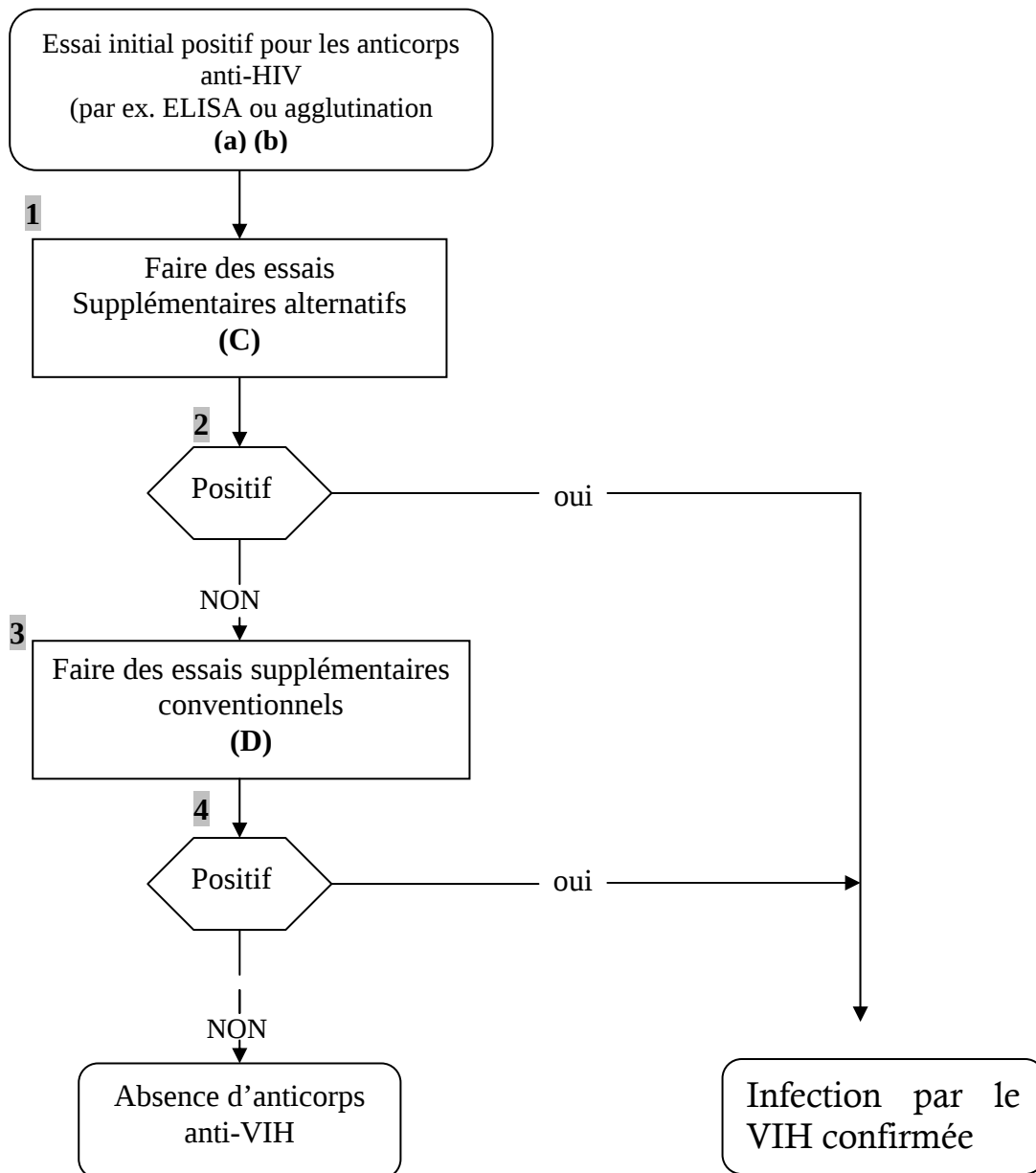


Figure 2 : le diagnostic indirect de l'infection à VIH/Sida

Annotations

- a. *Pour la détection des anticorps anti-VIH*, la stratégie consiste en un ou plusieurs tests initiaux (parfois appelés tests de dépistage) sur un échantillon de sérum, suivis de tests supplémentaires (également appelés tests de confirmation). Avant leur mise en oeuvre, les test comme les

stratégies de dépistage doivent être évalués en situation réelle et dans les régions où ils seront utilisés.

Il est important de prendre en considération les informations cliniques et épidémiologiques pertinentes, lorsque l'on notifie les résultats des examens de laboratoire.

- b. ***Pour les tests initiaux ou de dépistage***, on utilise surtout la technique immuno-enzymatique (**ELISA**) et la **technique d'agglutination**. Les coffrets de réactif VIH actuellement commercialisés sont hautement sensibles et spécifiques, et permettent la détection d'anticorps anti-VIH dans l'échantillon de sang analysé. L'échantillon doit être répétitivement réactif avant d'être jugé positif à ce premier niveau d'investigation.
- c. ***Les tests supplémentaires alternatifs*** doivent de préférence être différents (test indirect plutôt que de type compétitif) et utiliser des antigènes autres que ceux utilisés pour le test initial afin de réduire le risque de résultats faussement positifs (lysats viraux de préférence aux polypeptides recombinants ou synthétiques).
- d. ***Les techniques utilisées pour les tests supplémentaires*** (de confirmation) conventionnels sont :
 - o Le western blot (WB),
 - o L'immunofluorescence indirecte, et
 - o La radio-immunoprécipitation (RIPA)

Un test supplémentaire conventionnel est nécessaire seulement en l'absence de concordance dans les résultats des tests initiaux et du test

supplémentaire alternatif, ou en cas de réaction équivoque à l'un ou l'autre des tests.

S'il n'y a pas possibilité d'effectuer un test supplémentaire conventionnel, il faut faire un second prélèvement sanguin et l'analyser deux semaines après le premier. Le second échantillon doit être adressé à un laboratoire de référence si le résultat demeure équivoque.

- e. Aux stades précoces de la séroconversion, les résultats obtenus par le WB peuvent être indéterminés. Tester à nouveau, le même échantillon. Si le schéma se répète, le sujet doit être testé périodiquement au moins 6 mois. Une personne dont les résultats au test continuent d'être systématiquement indéterminés pendant 6 mois – en l'absence de facteurs de risques épidémiologiques ou de signes cliniques – peut être considérée comme négative pour les anticorps anti-VIH.

Diagnostic différentiel des infections VIH

Certains sérums présentent une double réaction HIV-1 et HIV-2 en Western Blot. Elle correspond à une infection simple avec réaction croisée ou à une double contamination (assez rare). Des tests utilisent des peptides menant des épitopes immunodominants VIH-1 et VIH-2 permettent de différencier les deux virus dans certains cas.

3.2. Diagnostic direct

Le diagnostic direct de l'infection à VIH peut se faire, par :

- la détection de la protéine p24 circulante (Ag p24) [108];
- l'isolement du virus [67] ou,
- la détection du génome viral par Polymérase Chaîne Reaction [70]

3.3. le suivi biologique [64]

3.3.1. Evaluation de l'atteinte du système immunitaire

Parmi les tests évaluant le système immunitaire, seul le typage des sous populations lymphocytaires CD4 et CD8 est actuellement recommandé et utilisé en pratique courante.

La déplétion en lymphocytes CD4 (à l'origine du déficit immunitaire) est essentiellement liée à la réplication virale avec destruction directe des cellules infectées. Les chiffres normaux de lymphocytes CD4 sont compris entre 500 et 1500/mm³ selon les méthodes utilisées par les laboratoires.

Dans l'évolution naturelle de l'infection à VIH, le taux absolu de lymphocyte CD4 baisse progressivement, et dans l'ensemble, il existe une diminution du rapport CD4/CD8

3.3.2. Evaluation du taux de réplication virale : la charge virale

Elle permet de prédire la progression de la maladie, et de décider de la mise en route d'un traitement anti-rétroviral en association avec le taux de CD4.

L'infection par le VIH s'accompagne à tous les stades d'une réplication virale intense au niveau périphérique et ganglionnaire

Plusieurs données récentes montrent que la réponse immune anti-VIH joue un rôle important dans le contrôle de la réplication virale justifiant ainsi, l'immunothérapie.

4. LA PREVENTION DU SIDA [127]

La stratégie de réduction des risques, pour avoir un maximum d'impact, devrait comprendre un ensemble de composantes agissant simultanément dont les éléments suivants :

- ⇒ L'accès aux préservatifs et la promotion de leur utilisation, parallèlement à des stratégies telles l'encouragement à l'abstinence, au report dans le temps du premier rapport sexuel ou à la fidélité mutuelle ;
- ⇒ Le conseil et le dépistage volontaire du SIDA, de même que le dépistage précoce et le traitement des IST ;
- ⇒ L'éducation des consommateurs de drogues sur le VIH et les autres maladies qui peuvent être transmises par le sang et, la mise à disposition de matériel d'injection stérile, eau de javel ou d'autres moyens de désinfecter du matériel d'injection, et information et éducation afin de réduire la demande de drogues par injection,
- ⇒ La lutte contre la discrimination des groupes marginalisés (hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes, personnes vivant avec le VIH) et, la violence et l'exploitation sexuelles.

CHAPITRE II : LE SIDA DANS LES REGIONS TROPICALES

1. EPIDEMIOLOGIE

L'impact du sida dans les pays africains a été passé en revue dans deux articles récents [109, 106]. plusieurs points intéressant les maladies tropicales méritent d'être soulignés

1.1. Les groupes à risque

L'épidémiologie de l'infection à VIH en Afrique montre qu'il existe deux principaux groupes à risque : les jeunes adultes sexuellement actifs et les enfants nés de mères infectées.

1.1.1. *Chez l'adulte*

Les facteurs de risque pour l'acquisition de l'infection chez les adultes sont le fait,

- ☞ d'avoir des partenaires sexuels multiples,
- ☞ de présenter ou d'avoir présenté des ulcères génitaux,
- ☞ d'avoir eu des relations sexuelles avec des prostituées,
- ☞ d'habiter dans une zone urbaine (ou dans certaines zones rurales, par exemple la région de la Kagera en République – Unie de Tanzanie ou la région de Rakai en Ouganda) et,
- ☞ d'après certaines études, d'appartenir à un catégorie de niveau socio – économique et culturel élevé.

L'age auquel se déclare le plus souvent le SIDA se situe autour de 23 ans pour les femmes et 28 ans pour les hommes.

Les taux de séroprévalence les plus élevés ont été observés chez les prostituées des villes d'Afrique du centre et d'Afrique orientale ; un rapport signale que 90% d'entre elles sont positives pour les anticorps de VIH.

De faibles taux de séroprévalence ont été observés dans quelques populations rurales stables, avec peu de flux migratoires. Dans une région rurale du Zaïre, on a trouvé une séroprévalence de 0,8%, d'après des sérums recueillis en 1976, et ce taux est resté stable sur une période de dix ans[96]. Toutefois, dans cette même région, 11% des prostituées étaient séropositives en 1986. on connaît encore assez mal les variations du taux de prévalence de l'infection à VIH dans le temps et selon la région géographique.

D'après les données dont on dispose, il semblerait que l'infection gagne progressivement à partir des villes, les foyers d'endémie étant associés aux grands axes routiers. A Kinshasa (Zaïre) on a évalué à 1% par an le taux de séroconversion dans la population générale[80].

1.1.2. Chez l'enfant

Chez l'enfant, l'infection par le VIH est principalement périnatale.

Les facteurs de risque possibles de la transmission maternelle du VIH sont :

- ☞ une lymphopénie CD4 chez la mère,
- ☞ des décès de nourrissons lors de grossesses antérieures, et
- ☞ une lymphadénopathie chez la mère. [19, 97]

Quantitativement, le risque de transmission maternelle du VIH fait encore l'objet de recherches, mais on estime qu'il est d'environ 50%.

En Afrique, il existe une troisième voie de transmission du VIH, d'une part par les transfusions sanguines et d'autre part par les aiguilles, instruments de scarification et autres instruments servant à percer la peau.

La contribution de ces voies à l'ensemble des transmissions est inconnue, mais peut atteindre 1 à 10% d'après les résultats d'études réalisées dans différentes régions.

Les enfants atteints d'une anémie sévère due au paludisme, et qui exigent des transfusions de sang, semblent constituer un groupe à risque dans cette catégorie.

1.2. L'ampleur du fléau

1.2.1. en Afrique

Le SIDA a tué 2,3 millions d'Africains en 2001 [101]. Les taux de prévalence du VIH varient considérablement d'un pays à l'autre [14]. Ils vont de moins 1% de la population adulte dans certains pays de l'Afrique Occidentale à 20% environ ou davantage dans la partie australe du continent, les pays de l'Afrique Centrale et Orientale se situent à mi – chemin de ces deux extrêmes.

Quelques exemples de la prévalence de l'infection à VIH chez les adultes (15-49 ans) [14] :

- ✎ Basse prévalence (moins de 1%) : Mauritanie, Cap-Vert ;
- ✎ Prévalence élevée (5 – 15%) : Côte d'Ivoire, Burkina Faso, Guinée ;
- ✎ Prévalence très élevée (>20%) : Zaïre, Kenya, Ouganda, RDC, Congo, Rwanda, Burundi ;
- ✎ La Gambie, le Mali, le Tchad, le Niger connaissent des taux d'infection qui se situent entre 1 et 5% ;
- ✎ Sénégal : 1,40% (Décembre 2000)

Au cours de l'année 2002 [109], on estime que 3,4 millions de nouvelles infections se sont produites en Afrique subsaharienne, ce qui signifie que 28,1 millions d'Africains vivent avec le virus. S'ils ne disposent pas d'un traitement et d'une prise en charge appropriés, la plupart d'entre eux ne survivront pas la décennie. L'espérance de vie à la naissance en Afrique australe va s'abaisser à 45 ans à peine entre 2005 et 2010 en raison du SIDA [58]. Cela a des conséquences économiques graves, mettant en péril les entreprises dont les bénéfices sont largement entamés par les coûts directs associés au VIH (enterrements, coûts de santé, baisse de la productivité par l'absentéisme).

Selon une étude réalisée au Kenya [58], la retraite pour raison d'âge ne représente plus que 2% des employés en 1997.

Des données récentes dans des dispensaires prénatals montrent que plusieurs régions de l'Afrique Australe ont maintenant rejoint le Botswana, avec des taux de prévalence chez les femmes enceintes dépassant 30%. Cependant la prévalence du VIH chez les adultes en Ouganda continue de baisser, et il y a lieu de penser que la prévalence chez les jeunes (en particulier les femmes) est en baisse dans certaines parties du continent[109].

1.2.2. *Au Sénégal*

Depuis les premiers cas diagnostiqués en 1986, le taux de prévalence n'a jamais atteint jusqu'à ce jour les 2% [91]. Toutefois, malgré cette prévalence relativement basse, on note une progression exponentielle du nombre de cas de sida depuis le début.[14]

Tableau IV: Nombre de cas d'infection à VIH/Sida enregistré par année

Année	1986	1987	1988	1990	1994	1999	2000
Nombre de Cas	6	66	181	425	1445	2912	3000

Les estimations des cas réels basées sur la surveillance séro-épidémiologique se chiffrent à 75 000 personnes infectées en 1999 avec un sexe ratio de 1,3 [91]. Il y aurait 4500 décès dont 100 bébés et 1600 orphelins. En 2000, les estimations sont de 80 000 personnes infectées par le virus du SIDA au Sénégal[14].

La séroprévalence au sein de la population générale serait de 1,40%.

Les 2 types de virus coexistent avec une nette prédominance pour le VIH-1.

2. IMMUNOLOGIE

La pathogénie de l'immunodéficience provoquée par l'infection à VIH a fait l'objet de plusieurs mises au point [49, 120].

Le VIH est un rétrovirus enveloppé dont la glycoprotéine d'enveloppe (gp120) possède une affinité pour la molécule CD4 de la surface des lymphocytes auxiliaires - inducteurs.

Une fois infectés *in vitro*, les lymphocytes se fondent en syncytium et meurent. On peut même observer une fusion des lymphocytes non infectés avec des lymphocytes infectés, par le « pont » gp120. les macrophages peuvent également être infectés par le VIH et peuvent servir de réservoirs latents de virus, et transporter le VIH jusqu'au cerveau.

L'infection par le VIH provoque un démantèlement progressif du système immunitaire, qui se traduit, peu après l'infection, par une phase de prolifération. On peut observer :

- ☞ une lymphadénopathie,
- ☞ une hyperplasie des cellules B,

- ☞ une hypergammaglobulinémie avec présence de complexes immuns circulants, et
- ☞ une altération de l'immunité humorale.

Le nombre de lymphocytes CD4 baisse progressivement, parallèlement à une détérioration croissante de l'immunité cellulaire. Cette phase intermédiaire se caractérise par une anergie cutanée, une absence de réactivité aux antigènes et mitogènes solubles, et une insuffisance de l'activité des cellules tueuses naturelles. Pendant cette phase, les malades peuvent développer un sarcome de Kaposi et des infections opportunistes relativement mineures telles qu'une candidose ou un herpes.

Au stade final, atrophique, on observe une destruction totale du système lymphoïde avec un effondrement de la numération lymphoïdes terminal souvent associé à des infections opportunistes multiples et sévères et à certains cancers.

Il existe plusieurs variantes importantes dans l'histoire naturelle de la maladie. On peut notamment citer l'apparition d'une maladie neurologique qui peut parfois constituer la seule manifestation de l'infection par le VIH.

Les symptômes vont de l'encéphalopathies légère à la parésie sévère, la neuropathie périphérique autonome et la démence totale. L'examen neuropathologique montre des foyers de macrophages et de cellules gliales infectés par le VIH dans la matière blanche, accompagnés d'une démyélinisation vacuolaire.

La pathogénie de ce syndrome est inconnue, mais certaines données laissent à penser qu'il pourrait exister des souches neurotropes du virus. [6]
La pathogénie exacte de l'immunodéficience provoquée par le VIH est encore controversée. La proportion de lymphocytes CD4 infectés est en fait très faible,

de 0,01% à 0,1% , selon les estimations [60], et des mécanismes autres qu'un effet cytopathogène direct du virus pourrait être impliqués.

In vitro, le VIH est activé lorsque les lymphocytes ou macrophages hôtes sont stimulés par des antigènes ou des mitogènes [81]. Ainsi, on a pensé que des infections, ou d'autres phénomènes qui perturbent l'équilibre immunitaire, pourraient constituer les cofacteurs de l'exacerbation de l'infection à VIH.

Les cellules porteuses d'une infection latente ou chronique pourraient se mettre à exprimer le VIH ou ses produits protéiques après co-stimulation par d'autres infections. Le déficit immunitaire pourrait ainsi être perpétué par les infections opportunistes qui frappent l'hôte.

3. VIROLOGIE

On possède maintenant de nombreuses données sur la virologie du VIH [26, 28]. Certains points méritent d'être soulignés.

En Afrique, il existe au moins types de virus de l'immunodéficience, le VIH-1 et le VIH-2.

Le VIH-1 provoque le SIDA (classique) et présente des variations considérables de sa glycoprotéine d'enveloppe. On suppose que les variants d'enveloppe peuvent avoir une gamme de cellules hôtes différentes et rendre compte de la variété des syndromes cliniques observés dans différentes régions.

Le VIH-1 domine en Afrique du centre et en Afrique orientale tandis que l'infection par le VIH-2 prédomine dans certaines populations d'Afrique de l'ouest.

La pathogénicité et la durée d'incubation du VIH-2 sont encore controversées, mais il est manifeste que ce virus peut être associé à une maladie de type SIDA.

Le VIH-2 présente des similitudes génétiques avec le virus de l'immunodéficience simienne (VIS), et ces deux virus contiennent le même gène« X » de fonction encore inconnue. Le VIS provoque une grave maladie de type SIDA chez le macaque, qui pourrait constituer un modèle animal plausible pour le SIDA humain mais n'est pas pathogène pour son hôte naturel, le singe vert africain[64].

4. ASPECTS CLINIQUES

Les manifestations cliniques des infections à VIH en Afrique reflètent dans une certaine mesure le tableau général des infections dues à des micro organismes opportunistes endémiques.

Les principaux aspects cliniques chez l'adulte sont énumérés au tableauV, par ordre (approximatif) de fréquence. En l'absence de techniques de diagnostic prises, les causes de nombreux symptômes courants tels que fièvre, amaigrissement, toux et diarrhée sont souvent inconnues.

Les africains atteints du SIDA présentent une fréquence élevée de troubles cutanées telles que dermatites maculaires prurigineuses, les dermites séborrhéiques. On trouve également souvent chez les africains la tuberculeuse, la candidose sévère, la méningite cryptococcique et le zona.

Même si les possibilités de diagnostic sont souvent limitées, la pneumopathie à *pneumocystis carinii* semble rare, et l'infection à *mucobacterium avium* n'est que rarement diagnostiquée.

Les principaux aspects cliniques du SIDA chez les enfants Africains (tableau V) sont remarquablement voisins de ce qu'on observe chez les enfants des pays tempérés.

TABLEAU V : Manifestations cliniques du SIDA en Afrique

Adultes	Fréquence approximative	Enfants	Fréquence approximative
Asthénie	90 % +	Arrêt du développe	90 % +
Amaigrissement	80-90 %	Amaigrissement	90 % +
Diarrhée	60-70 %	Diarrhée	80-90 %
Fièvre	60-70 %	Fièvre	80-90 %
Toux	40-60 %	Dermatose	60-70 %
Dermatose	30-40 %	Parotidite	40-50 %
Lymphadénopathie	30-40 %	Pneumopathie	30-40 %
Démence	10 % ?	Infection bactérienne	30-40 %
Sarcome de Kaposi	5-10 %		

Infections opportunistes* :

Candidose
Tuberculose
Zona
Herpes
Méningite cryptococcique
Toxoplasmose
Cryptosporidiose
Chancre mou
Lymphogranulome vénérien

* Les fréquences ne sont pas indiquées en raison des différences d'exactitude du diagnostic selon les rapport.

DEUXIEME PARTIE :
TRAVAIL PERSONNEL



C'est une étude cas – témoins qui s'est déroulée de septembre à décembre 2001 , dans la région de Dakar. Elle a eu pour cadre le dispensaire municipal de Pikine, et la clinique des maladies infectieuses, Ibrahima Diop Mar du centre hospitalier universitaire de Fann, de Dakar.

I.1. LE DISPENSAIRE MUNICIPAL DE PIKINE.

Le dispensaire municipal est l'un des plus importants du département de Pikine. Il a servi de lieu de recrutement des témoins.

Il se trouve dans le district sanitaire de Pikine qui occupe le sud du département, à l'entrée de la localité.

Le district de Pikine a une superficie de 37 km², et est distant du centre ville de 12 km. Sa population totale était de 257 038 habitants en 1992 [85], et de 448936 habitants en 1999. Il dispose de 12 postes de santé, 1 centre de santé, 23 cabinets et 4 cliniques.

Le district de Pikine est situé dans le département du même nom, il est limité :

- A l'Est par le District de Mbao,
- Au Sud par la Route Nationale ;
- Au Nord par le District de Guédiawaye ;
- A l'Ouest par le District Centre.

Sa zone de responsabilité prend en compte Pikine ancien, une partie de Médina Gounass, Guinaw Rails (habitations spontanées), les villages traditionnels de Thiaroye – Gare, Thiaroye – Kao, Yeumbeul, Malika et les zones de recasement que sont Thiaroye Miname et Sam – Sam.

La ville de Pikine est située dans la zone des Niayes à la sortie de l'isthme du Cap – Vert à 15 km de Dakar. Elle est limitée :

- A l'Est par le département de Rufisque ;
- A l'Ouest par le département de Dakar ;
- Au Sud et au Nord par l'océan atlantique.

I.2. L'HÔPITAL DE FANN

L'hôpital de Fann est un grand centre hospitalier universitaire situé sur l'avenue Cheikh Anta Diop de Dakar entre la cité universitaire et le centre national de transfusion sanguine. Il couvre une superficie de 7 hectares environ.

C'est au niveau du centre de traitement ambulatoire des maladies infectieuses de cet hôpital qu'on devait effectuer le recrutement des cas.

Le CHU constitue un pôle national et même sous régional en matière de prise en charge des pathologies infectieuses (SIDA, paludisme, méningite...) ; grâce à ses capacités diagnostique et thérapeutique.

Le CHU de Fann comporte les services de :

- Neurologie,
- Neurochirurgie,
- Psychiatrie,
- Pneumo-phtisiologie,
- Radiologie générale,
- Kinésithérapie,
- Maladies infectieuses,
- Les laboratoires de Biochimie, de Bactériologie – virologie et de Parasitologie – Mycologie.

Il renferme en son sein, deux services possédant des statuts particuliers :

- Hôpital d'Enfant d'Albert Royer,
- Institut de Léprologie

Un certain nombre d'éléments justifie le choix porté sur Dakar et Pikine. En effet il s'agit de deux des trois départements de la région de Dakar.

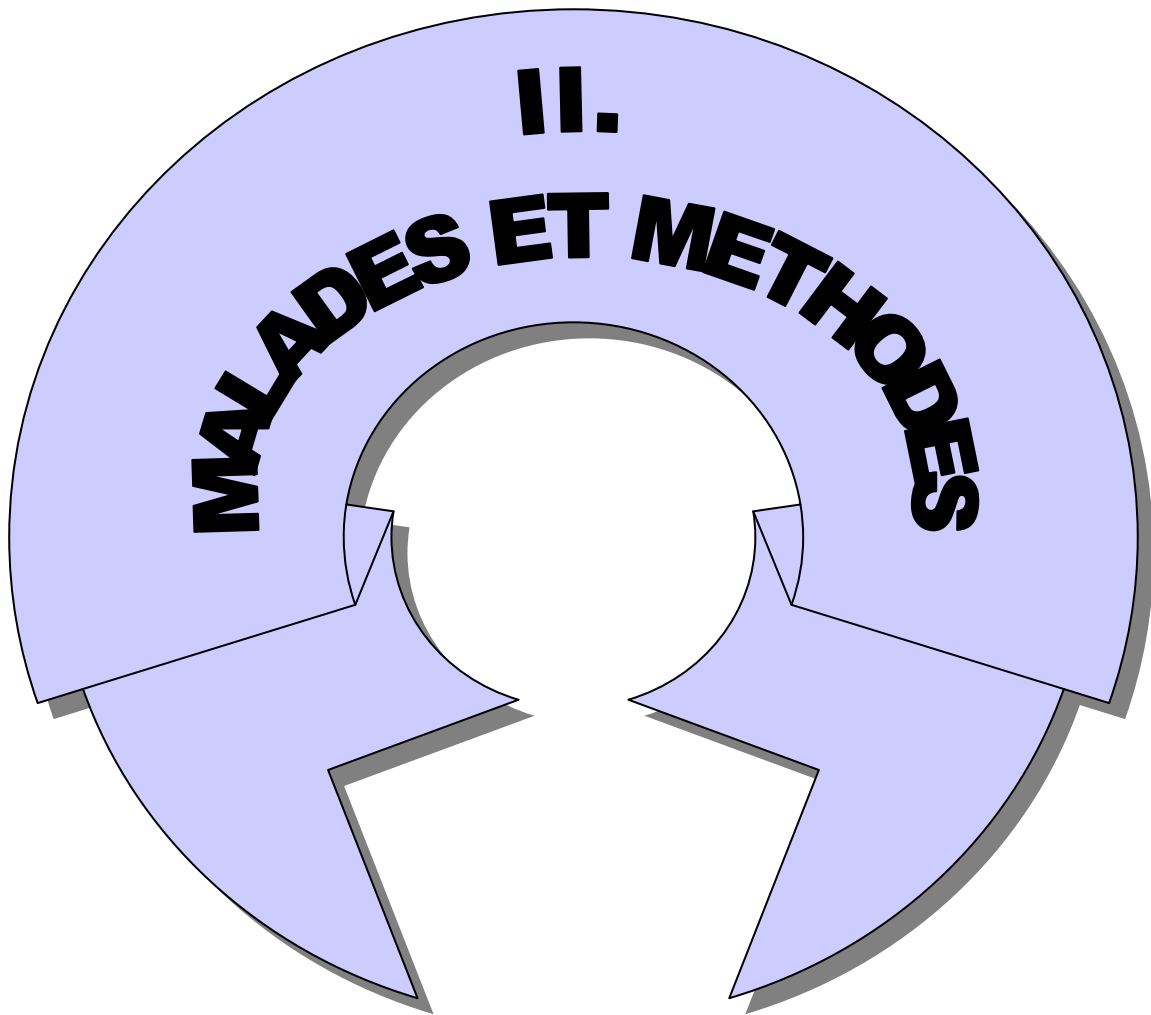
Ces deux villes sont proches sur le plan démographique et du paludisme qui est du type hypoendémique à transmission discontinue. La pression de chloroquine y est importante, liée à l'existence d'une infrastructure sanitaire développée, et à l'automédication .

Aussi de par leur intense trafic national et international, ces deux villes sont-elles exposées à l'importation, non seulement de souches de *Plasmodium falciparum* chimiorésistantes , à partir des zones où la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* existe, mais aussi des virus du SIDA.

D'autre part, les déplacements de personnes entre Dakar et Pikine, distants seulement de 15 km, sont importants et constants d'où l'impossibilité de savoir avec précision l'endroit (Dakar ou Pikine) où les sujets parasités se sont effectivement contaminés même sur la base de leurs déclarations suite à un interrogatoire. Ce brassage expose à un transfert constant d'une zone à l'autre de souches de *Plasmodium falciparum* chimiorésistantes.

En zone d'hypoendémie, le paludisme urbain est caractérisé par un faible pourcentage de porteurs asymptomatiques de trophozoïtes, et les structures sanitaires préalablement indiquées, ont été choisies en raison de leur bonne fréquentation.

L'étude a été effectuée pendant l'hivernage, période de forte transmission du paludisme ce qui a permis d'obtenir plus facilement le nombre de test requis.



II. 1 MALADES

Durant notre période d'étude, les patients ont été sélectionnés parmi les sujets venus en consultation dans les formations sanitaires choisies. Ils présentaient des signes cliniques évocateurs d'un paludisme simple.

Tous les malades sélectionnés (cas et témoins) :

- ▶ étaient atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum* exclusivement, avec une parasitémie supérieure ou égale à 1000 trophozoites/mm³ de sang, et
- ▶ la recherche de chloroquine dans les urines par le test de DILL et GLAZKO était négative.

II.1.1 Les cas

- ***Critères d'inclusion***

Les cas (sujets séropositifs atteints de paludisme) étaient tous les malades âgés de 18 ans à 65 ans infectés par le VIH/SIDA, venus faire une consultation au Centre de Traitement Ambulatoire de la Clinique des Maladies Infectieuses du CHU de Fann pour des signes cliniques évocateurs d'un paludisme simple confirmé par une goutte épaisse positive.

- ***Critères d'exclusion***

Sont exclus dans ce groupe :

- ☞ les femmes enceintes ;
- ☞ les patients ayant reçu un traitement antipalustre dans les 15 jours précédents et/ou bénéficiant d'une trithérapie antirétrovirale.

II.1.2 Les témoins

- *Critères d'inclusion*

Les témoins (sujets séronégatifs atteints de paludisme) étaient des malades du même groupe d'âge, mais séronégatifs pour le VIH et présentant des signes évoquant un paludisme simple confirmé par une goutte épaisse positive.

- *Critères d'exclusion*

En dehors des patients qui présentaient un paludisme grave, ont été exclus de l'étude :

- ☞ les femmes enceintes,
- ☞ les patients ayant reçu un traitement antipalustre dans les 15 jours précédents et ,
- ☞ ceux souffrant d'une pathologie majeure : tuberculose, méningite, pneumonie, diarrhée chronique....

Tous les malades (cas et témoins) avaient donné leur consentement éclairé pour entrer dans l'étude, après avoir été mis au courant des objectifs de cette dernière.

Au total, 1 cas et 56 témoins des deux sexes, âgés d'au moins 18 ans ont été ainsi sélectionnés pendant la période de septembre à décembre 2001.

II.1. METHODES

II.2.1. Recrutement des malades

Après que le diagnostic du paludisme a été retenu à la consultation, la sélection a consisté à faire, une goutte épaisse et un frottis sanguin à tous les patients.

Le frottis est coloré au GIEMSA et examiné immédiatement sur 200 champs microscopiques. Seuls les malades hébergeant *Plasmodium falciparum* exclusivement avec une parasitémie au moins égale à 1000 globules rouges parasités par des trophozoïtes (GRP) par mm³ de sang ont été retenus.

Chacun d'eux est à nouveau examiné cliniquement par un médecin qui remplit un questionnaire standard, avec la prise de la température, de la tension artérielle et du poids.

Un test de DILL et GLAZKO [75] (recherche de métabolites urinaires de la chloroquine), et la recherche de grossesse par le dosage de l'hormone gonadotrophique sont aussi effectués à l'inclusion. Le test de DILL et GLAZKO a consisté, à mettre dans un tube à essai 2 ml d'urine (à centrifuger si les urines sont troubles), et à ajouter 10 gouttes du réactif de DILL et GLAZKO, avant d'agiter pendant quelques minutes. Et si le précipité de la couche chloroformique vire du jaune au violet – rouge, l'urine contient de la chloroquine.

Ceux parmi eux qui répondaient aux critères d'inclusion, avec un état général non altéré, sans signe de gravité, et qui avaient donné leur consentement, étaient inclus dans l'étude.

Des renseignements concernant chaque membre de l'échantillon, relatifs à l'identité, l'adresse et aux résultats des examens cliniques et parasitologiques sont consignés sur une fiche d'observation individuelle.

Du sang veineux est prélevé à J 0 sur anticoagulant (EDTA), et acheminé le plus rapidement possible dans un thermostat au laboratoire de parasitologie de l'Université CHEIKH ANTA DIOP de Dakar pour les tests *in vitro* de chimiosensibilité à la chloroquine. Le microtest – DELI a été utilisé à J 0 pour évaluer cette chloroquinorésistance *in vitro*. Un prélèvement devait aussi être acheminé au laboratoire de Biologie Moléculaire du service de bactériologie – virologie de l'hôpital Aristic Ledantec pour le génotypage de *Plasmodium falciparum*

Parallèlement, on a effectué une numération des hématies, des leucocytes, de l'hématocrite et de l'hémoglobine à J 0 avant le début du traitement. Après traitement les malades seront suivis *in vivo* pendant 60 jours

II.2.2. les techniques de laboratoire pour le diagnostic et la sérologie

II.2.2.1. Goutte épaisse et frottis sanguin [36, 44, 82]

a) Goutte épaisse

La goutte épaisse, mise au point par Ronald Ross en 1903, permet l'examen sur une surface de moins de 1 cm² d'une quantité de sang relativement importante (3 à 5 microlitres). Ceci aboutit à une concentration des parasites : le seuil de positivité du test est évalué à 10 à 20 parasites par microlitre, d'où son intérêt dans la recherche des parasites présents dans le sang en petite quantité.

Elle est surtout appliquée à la recherche du *Plasmodium*, hématozoaire du paludisme.

En dehors du délai de 24 heures qu'elle exige avant la réponse, les inconvénients majeurs de cette technique apparaissent au moment de la lecture : en effet, la morphologie des parasites est modifiée et les hématies parasitées, dont la morphologie est très utile au diagnostic d'espèce, sont lysées. En outre, la numération des hématies parasitées n'est pas non plus réalisable. Seule est envisageable une évaluation très grossière de la parasitémie faisant appel à un rapport parasites/leucocytes.

La densité parasitaire est exprimée en nombre de plasmodium par microlitre de sang sur la base de 8 000 globules blancs par microlitre. Elle permet d'apprécier le degré de gravité du paludisme chez les patients.

Nous avons la formule suivante :

$\frac{\text{Nombre de trophozoïtes comptés}}{200 \text{ leucocytes}} \times 8000 \text{ leucocytes}$

⇒ **Prélèvement**

- ◆ Une goutte de sang de 200µl environ est prélevée au doigt du malade impaludé, chez qui le médecin consultant a diagnostiqué un état d'accès palustre simple, avant tout traitement. Ce qui va permettre de déterminer la densité parasitaire à J 0, avant d'inclure le patient.
- ◆ Des prélèvements seront aussi effectués pour confectionner une goutte épaisse de contrôle, de J 1 à J 7, puis à J 14, J 28 et J 60.

⇒ **Technique**

- ◆ La goutte de sang prélevée au doigt est placée au milieu de la moitié droite d'une lame de verre propre et dégraissée.
- ◆ Avec le coin d'une lame de verre propre, on défibrine immédiatement par un mouvement en spirale pendant environ 2 minutes jusqu'à obtenir un disque de sang d'environ 1 cm de diamètre.
- ◆ La goutte est séchée à l'air libre, puis on effectue une déshémoglobination en recouvrant la lame avec de l'eau distillée pendant cinq minutes.
- ◆ La goutte est ensuite recouverte par la préparation de Giemsa dilué pendant vingt minutes pour la coloration.

b) Frottis

La recherche directe du parasite se fait en première intention sur frottis, une technique rapide permettant une identification de l'espèce et le calcul de la parasitémie.

Il s'agit d'un étalement mince d'une goutte épaisse de sang prélevé en général à la pulpe du doigt, à l'aide d'un vaccinostyle, sur une lame de verre.

Le seuil de détection est 100 hématies parasitées par microlitre de sang. Parfois on peut faire un prélèvement veineux, sur tube à hémolyse contenant un anticoagulant, ce qui permet de pratiquer sur le même prélèvement les examens hématologiques.

⇒ **Coloration**

La coloration panoptique au May Grunwald Giemsa reste la méthode de référence. Il existe cependant d'autres méthodes : la coloration au Giemsa utilisée et la coloration rapide de Field

⇒ Numération des plasmodiums

Sur le frottis, la parasitémie ou densité parasitaire est exprimée en pourcentage d'hématies parasitées en établissant le rapport :

$\frac{\text{Nombre d'hématies parasitées décomptées dans N champs microscopiques}}{\text{Nombre d'hématies saines décomptées dans N champs microscopiques}} \times 100$
--

L'examen du frottis permet de détecter des parasitémies de l'ordre de 200 parasites par μl de sang.

Durant notre étude l'examen par frottis sanguin a été utilisé pour vérifier, après incubation si la culture a poussé dans les puits dépourvus d'antipaludique, c'est à dire si après 48 heures les trophozoïtes ont donné des schizontes.

Si l'examen du frottis d'un patient ne montre pas la présence de schizonte, la culture est donc négative, et le DELI TEST ne pourra pas être interprétable pour ce patient, qui sera exclu de l'étude de la chimiosensibilité *in vitro* au sulfate de chloroquine.

II.2.2.2. Hémogramme

L'hémogramme est réalisée à J 0 avant le traitement chez les 56 témoins, et chez le cas. Chez le cas, le taux d'hémoglobine, le nombre de globules rouges et de globules blancs ainsi que l'hématocrite sont évalués à J 0. chez les témoins, seuls le taux d'hémoglobine et le nombre de globules rouges sont mesurés.

II.2.2.3. Sérologie VIH

La méthode utilisée pour le diagnostic de l'infection à VIH est l'ELISA (grenscreen ou ortho HIV-1/HIV-2 AB capture ; Elisa test systeme, de CHIRON/DIAGNOSTICS). La confirmation est faite par Western – Blot.

a) Principe

Il repose sur la détection des anticorps anti-HIV à la suite d'une réaction antigène anticorps visualisée par la fixation d'une anti-globuline couplée à une enzyme qui transforme son substrat incolore en un produit coloré mis en évidence par spectrophotométrie.

b) Evolution des tests ELISA

Les tests d'ELISA de premières générations utilisaient comme antigène des lysats de cellules infectées des protéines virales et cellulaires occasionnant de fausses réactions positives.

Les tests de deuxième génération utilisent comme antigène soit des protéines de recombinaison génétique, soit des peptides synthétiques correspondant à une partie des principales protéines impliquées dans la réponse immunitaire. La spécificité des tests ainsi que leur sensibilité ont été améliorées. Ils ont aussi permis une détection plus précoce des séroconversions (de 10 jours environs).

Les tests ELISA de 3^{ème} génération ont la particularité d'avoir le conjugué qui n'est plus une immunoglobuline anti-IgG, comme dans les tests de 2^{ème} génération (permettant de révéler les IgG uniquement). Ils sont maintenant composés d'antigènes recombinants marqués par une enzyme. Ils détectent toutes les classes d'anticorps en particulier les IgM.

Ainsi les séroconversions sont dépistées 5 jours plus tôt qu'au moyen des tests de 2ème génération grâce à la mise en évidence du pic IgM précédent du IgG.

Les tests de quatrième génération combinent un test ELISA de 2ème ou 3ème génération pour la détection des anticorps avec un EIA pour la détection de l'antigène de capsid p24 du VIH . Un résultat positif peut révéler la présence d'anticorps et/ou de l'antigène. Seule l'utilisation des tests séparés permet de déterminer la cause de la réactivité vis à vis de ce test de 4ème génération. Ces tests assurent une détection plus précoce du stade initial de l'infection.

☞ *Les tests « rapides »*

Ils font appel à une agglutination ou une absorption du complexe sur une membrane puis une coloration visible à l'œil nu. Ils sont facilement réalisables sans appareillage sophistiqué, mais sont moins sensibles notamment lors de séroconversion, en comparaison avec les tests standards de 3^{ème} génération.

c) Interprétation des résultats de dépistage

Sur sérum, un double test d'ELISA utilisant deux méthodes distinctes est pratiqué.

- Si les deux tests ELISA sont négatifs, il n'y a pas de séroconversion (un autre test n'est pas pratiqué).
- S'il existe un fort doute de contamination ; on peut faire la recherche de l'antigène p24 ou refaire le test 3 mois après.
- Si les résultats des tests sont dissociés ou positifs, il faut pratiquer un test de confirmation sur un deuxième prélèvement.

d) Test de confirmation

La spécificité des tests ELISA est élevée, mais des réactivités faussement positives sont encore possibles nécessitant l'apport des tests de confirmation.

La confirmation de ces résultats repose sur la caractérisation des différentes réactions antigène-anticorps grâce à la dissociation des antigènes viraux. Elle se fera par Western Blot qui est un test de confirmation et de dissociation.

Un deuxième prélèvement est nécessaire pour confirmer la présence d'anticorps anti-HIV spécifique.

II.2.2.4. Détermination de la charge virale

La quantification de la charge virale est effectuée par le b-DNA Analyzer de CHIRON/DIAGNOSTICS

a) Définition

La charge virale plasmatique est l'indicateur du nombre de copies de molécules d'ARN viral par millilitre de sang. Sa détermination permet la mesure directe de l'activité virale.

b) Méthodes de mesure

Parmi les techniques permettant la quantification de l'ARN plasmatique du VIH-1, seules les trousse commerciales bien standardisées et aptes à évaluer un grand nombre de prélèvements sont considérées. Parmi celles-ci :

- Quantiplex HIV RNA (Chiron/Bayer) qu'on a utilisé,
- NASBA QR System (Organon Teknika),
- Amplicor HIV-1 Monitor (Roche Diagnostic Systems).

La sensibilité, la reproductibilité et les conditions techniques d'utilisation sont différentes.

c) Principe et description des techniques [39]

Les trois trousseuses utilisent des techniques d'amplification différentes pour la mesure de l'ARN plasmatique (tableau VI). On décrira celle concernant le Quantiplex HIV RNA (Chiron/Bayer) utilisée dans notre étude.

Tableau VI : Principales techniques de détermination de la charge virale

	AND branché (Chiron)	NASBA (Organon)	RT-PCR (Roche)
Extraction de l'ARN	- plasma - 1 ml - lyse simple sans détergent	- plasma - 0,2 ml - lyse simple sans détergent - précipitation à l'alcool	- plasma - 0,2 ml - lyse simple sans détergent précipitation à l'alcool
Méthodologie	- ARN viral immobilisé avec capture sur sonde - amplification du signal - gag	-RT in vitro de l'ARN viral en ADNc - génère de nouveaux ARN par l'ADNc - pol et gag	- RT in vitro de l'ARN en ADNc - amplification par PCR - gag

▪ La technique Quantiplex HIV RNA (Chiron/Bayer)

Elle utilise une technique sandwich d'hybridation de l'acide nucléique pour quantifier l'ARN dans le plasma humain (fig.1). Le VIH-1 est tout d'abord concentré par centrifugation à partir du plasma. Une fois que l'ARN génomique est libéré des virions, il est capturé sur un support solide (micropuits) par l'intermédiaire de sondes de capture spécifiques constituées d'oligonucléotides de synthèse. Une série de sondes cibles permet de réaliser l'hybridation de l'ARN viral avec les sondes 'pré-amplificateurs'.

Par utilisation de sondes d'ADN branché, marquées à la phosphatase alcaline, on obtient une amplification d'environ 1800 fois par molécule d'ARN viral. Après adjonction de substrat, la réaction de chimiluminescence est

mesurée dans un luminomètre. Le nombre de photons émis est proportionnel à la quantité d'ARN présente dans l'échantillon.

Une courbe d'étalon est obtenue à partir de l'émission de signaux lumineux des étalons contenant des concentrations connues de virus traités à la bêta propiolactone. La quantité d'ARN de l'échantillon est déterminée à partir de cette courbe d'étalon.

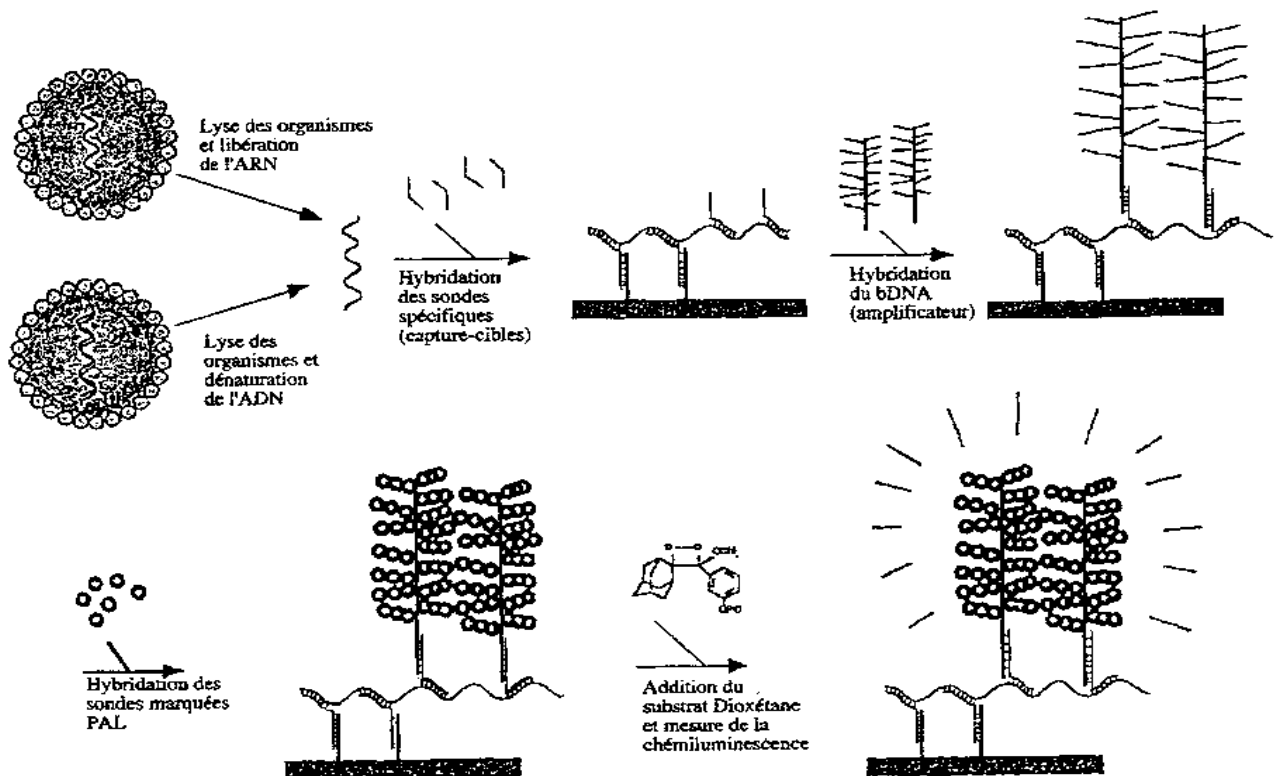


Figure 3 : Technique d'ADN branché (trousse Chiron/Bayer)

II.2.2.5.Détermination du taux de CD 4

Le décompte des CD4 s'est fait par le FACSCCount de BECTON DICKINSON

a) Définition

Les lymphocytes sont des cellules de petite taille, à cytoplasme réduit, présents dans le sang, la moelle et les tissus lymphoïdes, et jouent un rôle important dans l'élaboration de la réponse immunitaire. Les lymphocytes T ont à leur surface des glycoprotéines distinctives qui sont importantes pour leur reconnaissance. Elles expriment à leur surface le récepteur CD3, une glycoprotéine antérieurement connue sous le nom de T3 ou OKT3. Ces cellules exprimant le récepteur CD3 peuvent en outre se subdiviser en cellules porteuses du récepteur CD4 ou CD8. Les lymphocytes T CD4⁺ ont généralement des fonctions d'auxiliaires, tandis que les lymphocytes T CD8⁺ ont des fonctions cytotoxiques ou suppressives [111]

b) Méthodes de mesure

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer le degré de dysfonctionnement immunologique. En raison de sa sensibilité, de sa rapidité et de sa capacité quantitative précise, la cytométrie de flux est devenue la méthode privilégiée pour l'immunophénotypage.

Cependant, il existe d'autres méthodes alternatives adaptées à la numération des lymphocytes T CD4⁺ dans le suivi biologique des patients infectés par le VIH [41] et selon les recommandations de l'ANRS, l'utilisation de techniques alternatives à la cytofluorométrie, moins coûteuses et plus simples, doit être encouragée [8].

Le pourcentage de lymphocytes T CD4⁺ et le nombre absolu de lymphocytes T CD4⁺ ont une excellente valeur pronostique pour la prédiction du SIDA et sont fortement corrélés entre eux [87, 93].

Cependant le pourcentage est préféré car sa variabilité est moins grande que celle du nombre absolu de lymphocytes T CD4⁺, mais dans la plupart des essais cliniques, le nombre absolu de lymphocytes T CD4⁺ constitue une exigence d'admission [116].

II.2.3. Test de chimiosensibilité *in vivo*

L'étude *in vivo* de la chloroquinorésistance a consisté à effectuer, après traitement, des prélèvements de sang, de J 1 à J 7, puis à J 14, J 28 et J 60. ces prélèvements vont servir à confectionner des gouttes épaisses pour suivre l'évolution de la parasitémie.

La résistance *in vivo* correspond à la persistance de symptômes palustres associés à l'existence de parasites chez un patient ayant préalablement été traité.

II.2.3.1. le traitement

En rapport avec les recommandations du Programme National de lutte contre le paludisme, les accès palustres simples sont traités à la chloroquine en première intention. En cas d'échec thérapeutique, l'association sulfadoxine – pyriméthamine est utilisée en seconde intention.

Le paracétamol est utilisé dans le traitement symptomatique.

❖ ***Le traitement de première intention*** : fait à base de chloroquine par voie orale à la posologie de 25 mg/kg/cure, en raison de 10 mg de chloroquine base par kilogramme de poids corporel (kgp) par jour durant les deux premiers jours et de 5mg/kgp le troisième jour.

❖ ***Le traitement de deuxième intention*** : a utilisé l'association sulfadoxine - pyriméthamine à la dose de 3 comprimés en une seule prise. Ce traitement a été utilisé dans les cas de paludisme chloroquinorésistant.

II.2.3.2. suivi après traitement

a) Pour les cas et témoins :

Un examen clinique complet, une numération formule sanguine et des prélèvements de sang pour les examens parasitologiques (frottis, gouttes épaisses) sont effectués de j 1 à j 7 ; puis, à j 14, j 28 et j 60. Les examens parasitologiques ont permis de suivre l'évolution de la parasitémie chez les cas et témoins.

Ces prélèvements visent aussi à déterminer la charge virale et le taux de CD4 du cas.

Concernant la résistance, son analyse peut être double : sur le plan thérapeutique selon les nouveaux critères de l'OMS, et du point de vue purement parasitologique suivant l'évolution de la parasitémie.

Suivant Les nouveaux critères d'efficacité thérapeutiques les réponses au traitement sont classées en trois catégories:

☛ Réponse parasitologique ou clinique adéquate

- ❑ Absence d'une parasitémie au dernier jour de la période de suivi avec ou sans fièvre
- ❑ Présence ou absence d'une parasitémie avec absence de fièvre pendant le suivi.

☞ **Echec thérapeutique précoce (ETP)**

La réponse est classée en ETP si le malade présente l'un des signes suivants au cours des trois premiers jours de suivi :

- ◆ Apparition de signes de gravité à J1, J2 ou J3, associés à une parasitémie.
- ◆ Température axillaire $> 37,5^{\circ}\text{C}$ à J2 avec une parasitémie supérieure à celle de J0.
- ◆ Température axillaire égale à $37,5^{\circ}\text{C}$ à J3 en présence d'une parasitémie.
- ◆ Parasitémie à J3 égale ou supérieure aux 25% de celle de J0.

☞ **Echec thérapeutique tardif (ETT)**

La réponse est classée en ETT si le malade présente un des signes suivants :

- ◆ Présence de signes de paludisme grave après J3 associés à une parasitémie
- ◆ Présence d'une parasitémie associée à de la fièvre au moins une fois entre J4 et J14

Les réponses parasitologiques selon les premiers tests pouvaient être :

☞ **Sensibilité**

☞ **Résistance de type I = RI**

La parasitémie disparaît en moins d'une semaine après le début du traitement et réapparaît avant le 28^e jour. Selon la période d'intervention de cette réapparition (ou recrudescence), la réponse de type I peut être précoce ou tardive.

- ◆ Elle est précoce si la recrudescence des formes asexuées du parasite intervient en moins d'une semaine après le début du traitement.

- ♦ Elle est tardive si la recrudescence intervient entre le 8^e et 28^e jour après le début du traitement

☞ **Résistance de type II = RII**

La densité parasitaire circulante diminue (de plus de 25% à j4), puis augmente de nouveau sans phase de disparition totale.

☞ **Résistance de type III = RIII**

La densité parasitaire circulante est peu (diminution de moins de 25% à J4) ou pas du tout influencée par le traitement antipaludéen.

II.2.4. Test de chimiosensibilité *in vitro* par le DELI - test

La détermination de souches S ou R a été évaluée *in vitro* avant traitement à J 0 avec le microtest DELI (double site enzyme linked lactate dehydrogenase enzyme immunodétection), mis au point par Druilhe et coll. [46]

II.2.4.1. Principe du DELI - test

Le micro-test DELI repose sur la mesure du taux de LDH (lactate déshydrogénase) de *Plasmodium falciparum*, qui est proportionnelle au niveau de croissance du parasite cultivé *in vitro*.

Il consiste à incuber l'échantillon de sang en présence de concentrations croissantes de sulfate de chloroquine (5,6 à 1435 nmoles/l) sur une micro plaque de 96 puits, à 37°C dans une cloche à bougie pendant 48 heures.

Les résultats sont évalués en mesurant le taux de LDH dans le surnageant de culture après trois congélations – décongélations par la méthode ELISA en double sandwich utilisant deux anticorps monoclonaux (Mab 17, Mab 19) dirigés contre deux épitopes différents de la LDH parasitaire.

Le niveau de sensibilité de la souche est évalué en déterminant la CI50, le seuil de sensibilité à la chloroquine étant inférieur ou égal à 100 nmoles/l

Ce test *in vitro* a été réalisé à j 0, avec le sang veineux prélevé avant la prise du médicament.

II.2.4.2. Méthodologie

Au laboratoire, on a d'abord procédé à la culture des plasmodium, avant de passer à la technique proprement dite du DELI TEST, qui se termine par la lecture des plaques à l'ELISA.

⇒ Culture des plasmodium

➤ Etapes Préliminaires

- 1) le sang doit être prélevé sur anticoagulant (EDTA) et gardé à 4°C au maximum durant 8 heures avant la mise en culture.
- 2) Vérifier la parasitémie qui doit être comprise entre 0,5 et 1% (c'est-à-dire entre 1 et 2 hématies parasitées par champ microscopique)
- 3) Centrifuger le sang à 1500 tours/minute pendant 5 minutes.
- 4) Retirer le plasma et les leucocytes à l'aide d'une pipette pasteur : on obtient le culot globulaire.

➤ Préparation de la suspension d'hématies parasités

- 1) Le culot globulaire est lavé 2 fois avec du RPMI avec Albumax
- 2) La parasitémie est éventuellement ajustée entre 0,5% et 1%
- 3) Le culot globulaire est ensuite lavé 1 fois avec du RPMI avec Albumax 0,5%

4) Pour un test en duplicate, déposer dans un tube stérile :

- RPMI avec Albumine et hypoxanthine :4,8 ml
- Hématies non parasitées (hématocrite 50%) : 225µl

➤ **Préparation de la suspension d'hématies non parasitées**

1) Le culot globulaire est lavé 2 fois avec du RPMI sans Albumax, et 1 fois avec du RPMI avec Albumax

2) Pour un test en duplicate, déposer dans un tube stérile :

- RPMI avec Albumine et hypoxanthine :4,8 ml
- Hématies non parasitées (hématocrite 50%) : 225µl

➤ **Préparation des plaques pour tester la sensibilité à la chloroquine**

1) Dans un tube de 10 ml déposer 15 mg de sulfate de chloroquine.

2) Dissoudre dans 3 ml d'éthanol à 70% et ajouter 7 ml de RPMI sans Albumax et agiter (solution mère)

3) Prendre 20µl de cette solution et les déposer dans 5 ml de RPMI avec Albumax : on obtient une solution sulfate de chloroquine à 1200mg/ml.

4) Préparer ensuite 8 dilutions de 2 en 2 de la solution précédente : on obtient ainsi des solutions de sulfate de chloroquine de 600 ng/ml à 4,68 ng/ml

5) Dans une plaque à fond plat pour culture cellulaire de 96 puits (Nunc ou Falcon) :

- Déposer 50µl de chaque dilution dans les puits 1 à 9
- Déposer 50µl de RPMI avec Albumax dans les puits 10, 11, et 12 (témoins)

- 6) Ajouter dans les puits 1 à 11 : 200µl de la suspension d'hématies parasitées.
- 7) Ajouter dans les puits 12 : 200µl de la suspension d'hématies non parasitées.
- 8) Déposer la plaque dans une cloche à bougie pendant 48 heures.
- 9) Congeler à – 20°C après avoir vérifier que la culture à poussé en examinant une microgoutte prélevée dans le puits témoin n°11. on fait un frottis mince, après recouvrir la plaque avec la matière plastique avant de congeler.

N.B. : - chaque test est fait en duplicate

⇒ Technique du DELI - test

➤ **Coter les plaques de microtitration à fond plat**

- 1) Préparer une solution de Mab 17 à 1µl/ml en PBS pH 7,4 sans BSA.
- 2) Répartir 100µl de la solution précédente dans chaque puits.
- 3) Couvrir la plaque et laisser toute la nuit à 4°C

➤ **Saturation des plaques (à effectuer le lendemain)**

- 1) Préparer une solution de PBS pH 7,4 avec BSA 1%
- 2) Vider les plaques et les vider 2 fois avec la solution de PBS-BSA 1% en déposant dans chaque puits 200µl de PBS-BSA 1%.
- 3) Repartir 300 ml de la solution de PBS-BSA 1% dans chaque puits.

- 4) Laisser 4 heures à la température ambiante.
- 5) Vider les plaques et les conserver emballées dans du papier aluminium à 4°C au maximum 1 mois.

➤ **TEST**

Les plaques de culture doivent être décongelées et recongelées au moins trois fois avant de commencer le test.

- 1) Sortir les plaques saturées du frigidaire et déposer 100µl des surnageants de culture en commençant par le témoin sans antimalarique et en terminant par le sang avec antimalarique le plus concentré. Ne rien mettre au niveau de la première colonne.
- 2) Laisser incubé 1 heure à 37°C
- 3) Vider la plaque d'un coup sec et essuyer la sur papier Joseph.
- 4) Laver la plaque 3 fois avec du PBS-BSA 1%.
- 5) Préparer une solution de Mab 19 biotinylisé diluée au 1/4000 en PBS-BSA 1% .
- 6) Déposer 100µl de cette solution dans chaque puits
- 7) Laisser incubé 1 heure à 37°C.
- 8) Vider la plaque
- 9) Laver

- 10) Préparer une solution de streptavidine POD diluée au 1/10000 en PBS-BSA
- 11) Déposer 100µl de cette solution dans chaque puits.
- 12) Laisser incuber 30 minutes à la température ambiante.
- 13) Sortir les réactifs pour la révélation (TBM et solution B) du frigidaire et les laisser à température ambiante pendant 30 minutes au moins.
- 14) Vider la plaque
- 15) Laisser 3 fois avec du PBS-BSA
- 16) Préparer pour une plaque :
 - 5,5ml de TBM et 5,5 ml de solution B et mélanger
- 17) déposer 100µl de cette solution dans chaque puits et attendre 5 minutes.
- 18) Arrêter la réaction en déposant 100µl d'acide phosphorique 1M
- 19) Lire les densités optiques à 450 nm.

II.2.5. Génotypage de *Plasmodium falciparum*

La séquence complète du génome de *Plasmodium falciparum* a été élucidée et est au stade d'annotation. Le challenge est maintenant comment utiliser au mieux ces connaissances dans les domaines de la santé publique et de la clinique.

Les souches résistantes à la chloroquine ont une accumulation réduite du médicament dans la vacuole digestive.

Deux transporteurs ont été identifiés. Peuvent jouer un rôle de médiateur dans cette résistance : *Pfcr1* (*Plasmodium falciparum* chloroquine résistance transporteur) et *Pfmdr1* (*Plasmodium falciparum* multi drug resistance). Des mutations génétiques sont associées à l'apparition de la résistance à la chloroquine.

- Le gène *Pfcr1K76T* situé au niveau du chromosome 7 code pour une protéine transmembranaire située au niveau de membrane de la vacuole digestive, qui est associée à une acidification de la vacuole digestive. Le remplacement du codon 76 de la lysine par la thréonine est noté dans les isolats de souches résistantes à la chloroquine.
- Le gène *Pfmdr1* situé au niveau du chromosome 5, est de la famille ABC cassette de fixation (ATP – binding cassette). Il code pour des transporteurs qui interviennent dans divers processus biologiques chez quelques organismes. Plusieurs de ces transporteurs ABC sont des médiateurs de la résistance chez la plupart de ces organismes. Ce gène code pour une protéine localisée au niveau de la paroi de la vacuole digestive. Ici , a été noté le remplacement au niveau du codon 86 de l'asparagine par la tyrosine.

L'étude de ces polymorphismes se fera par PCR après avoir extrait au préalable l'ADN du parasite.

Ces polymorphismes peuvent être identifiés par PCR, suivie de restriction de polymorphisme qui utilise des enzymes de restriction (reconnaissant des sites spécifiques) au niveau desquels ils agissent par coupure. L'action de ces enzymes permet de montrer l'existence de souches sauvages (wild- type), qui sont celles qui n'ont pas de modifications au niveau de la portion de gène amplifiée, et de souches mutantes qui présentent une modification au niveau de la portion de gène amplifiée.

La confirmation de ce génotypage se fera par clonage suivi du traitement de ce produit de clonage par un séquenceur. Le séquençage permet par la visualisation d'un chromatogramme d'affirmer ou d'infirmer le résultat de la restriction de polymorphisme.

L'ADN se compose de deux brins antiparallèles orientés dans le sens 5'–3'. La PCR est composée de différents cycles : **la dénaturation** qui permet l'ouverture des deux brins d'ADN. La température est élevée jusqu'aux environs de 94°C, **l'hybridation** qui permet aux amorces sens et antisens de s'apparier aux extrémités 5' La température est abaissée jusqu'à environ 55 à 60°C et enfin la **réplication** ou polymérisation qui permet la poursuite de la réplication dans le sens 5' – 3', la température avoisine 70°C. La répétition du cycle permettra la production en quantité exponentielle de brins d'ADN. La solution de PCR est composée :

- d'eau
- d'une solution tampon
- de chlorure de magnésium ($MgCl_2$), qui constitue un cofacteur
- des amorces sens
- d'une matrice d'ADN
- de Taq polymérase, enzyme thermostable permettant la réplication ou polymérisation.

Dans le cadre de l'étude initiée par l'école de santé publique de Boston et l'université Cheikh Anta Diop de Dakar, des prélèvements de sang veineux sont faits chez des porteurs de trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* diagnostiquées par un frottis et/ou une goutte épaisse.

L'ADN du parasite est alors extrait par la méthode du « PHENOL. CHLOROFORME ISOAMYL ». la portion du gène à étudier sera alors amplifiée (PCR) avec usage des amorces « sens » et « antisens »

L'extraction de l'ADN

On utilise la méthode du PhénolChloroforme. Elle est composée de plusieurs étapes qui vont de la lyse de la paroi globule rouge parasité en passant par la destruction de la membrane parasitaire et enfin l'isolation de l'ADN.

Certaines portions (segments) de cet ADN pourront alors être amplifiées.



III. 1 ETUDES DES TEMOINS (sujets paludéens seronégatifs)

III.1.1. Population d'étude

Sur les 175 patients fébriles ou présentant des signes fortement évocateurs d'un paludisme simple, examinés à Pikine, 60 avaient présenté une goutte épaisse positive (soit 34,3%).

Sur ces 60 patients, 4 ont été exclus, car ils ne remplissaient pas les critères d'inclusion dont :

- ☞ 1 test de grossesse positif, et
- ☞ 3 en cours de traitement

Ainsi 56 patients remplissaient finalement les critères d'inclusion pour les témoins, soit une prévalence de 32% (56/175).

III.1.1.1. Répartition des témoins selon l'âge

Les témoins sont âgés de 18 à 46 ans avec un âge moyen de 24,3, et la tranche d'âge de 18 à 29 ans représentaient 82,1% des patients

Tableau VII : distribution des témoins selon l'âge

AGE	EFFECTIF	POURCENTAGE
18 – 29 ans	46	82,1
30 – 46 ans	10	7,9

III.1.1.2. Répartition selon l'âge et le sexe

Les hommes étaient les plus représentés, 62,5% (35/56) parmi les témoins témoins, soit un sexe ratio de 35/21 soit 1,7 en leur faveur.

Cette représentativité étant encore plus nette chez les patients âgés de 30 à 46 ans où les hommes représentaient 80% (8/10) des témoins.

Tableau VIII : répartition des témoins selon les tranches d'âge et le sexe

Tranche d'âge sexe	18 – 29 ans	30 – 46 ans	Total	Pourcentage (%)
Masculin	27	8	35	62,5
Féminin	19	2	21	37,5
Total	46	10	56	100

III.1.2. Etude clinique

A J 0 la température moyenne pour l'ensemble de 56 témoins était de 37,7°C et 60,7 % d'entre – eux étaient apyrétiques. Ainsi 39,3 % (22/56) étaient fébriles à J 0.

Les céphalées étaient plus fréquemment retrouvées (94,6%) suivies des frissons (75%).

Tableau IX : prévalence des signes cliniques chez les 56 témoins

SIGNES CLINIQUES	NOMBRE	POURCENTAGE
<i>Fièvre</i>	22	39,3%
<i>Céphalées</i>	53	94,6%
<i>Frissons</i>	42	75%

III.1.3. Aspects hématologiques

Le taux d'hémoglobine et le nombre de globules rouges mesurés sur les 56 témoins ont donné les valeurs moyennes suivantes.

Tableau X : données hématologiques

Paramètres	Moyenne
Hémoglobine	12,5 g/dl
Nombre de GR	5173/mm ³

III.1.4. Aspects parasitologiques

La densité parasitaire à J 0, chez les témoins variait entre 1690 à 56163 parasites par microlitre (P/ μ l), avec une moyenne de 18167 P/ μ l.

La répartition selon l'âge et la densité parasitaire ont donné les résultats suivants.

Tableau XI : répartition selon l'âge et la densité parasitaire

Age	18 – 29 ans	30 – 46 ans	Total	Pourcentage (%)
DP(P/μl)				
[1000 – 5000[	6	4	10	17,8
[5000 - 10000[	9	0	9	16,1
[10000 - 30000[	19	4	23	41
[30000 - 50000[	11	2	13	23,3
≥ 50000	1	0	1	1,8
			56	100

Le tableau XI a permis de noter que 41% des témoins avaient une densité parasitaire comprise entre 10000 et 30000P/ μ l. Alors que 1,8% (1/56) seulement avait plus de 50000 P/ μ l. La tranche d'âge 18 à 29 ans était la plus parasitée.

En ce qui concerne l'évolution de la parasitémie, une réduction considérable de celle – ci est notée à J 7 (94,5).

Tableau XII : taux de réduction de la DP à J 7 et J 14 par rapport à J 0.

	J 7 PAR RAPPORT A J 0	J 14 PAR RAPPORT À J 0
<i>DP (moyenne)</i>	1017	2190
<i>% de réduction de la parasitémie</i>	94,5 %	89,1 %

III.1.5. Test *in vivo*

Comme préalablement indiqué, 56 ont été recrutés pour subir les tests *in vivo*. Mais finalement, 29 ont été correctement suivis jusqu'à J 28 soit environ 52%.

Ces patients étaient des adultes, et leurs parasitémies étaient comprises entre 1690 et 56.263 trophozoïtes de *P. falciparum* /mm³.

Chez tous les sujets traités, le test de DILL et GLAZKO, était négatif à J 0 avant le traitement.

Etude de l'efficacité clinique :

Une réponse clinique satisfaisante à J 3 avait été notée chez 23 patients sur 29 soit environ 79,3%

Sur les 29 témoins correctement suivis, il y avait 7 chez qui l'examen des gouttes épaisses de contrôle avait révélé la présence du parasite, associée à une persistance des symptômes, soit un taux global d'échec thérapeutique de 24,1% (7/29), réparti comme suit (tableau XIII) :

Tableau XIII : Cas d'échec thérapeutique (nombre et pourcentage)

	<i>ETP</i>	<i>ETT</i>	<i>Total</i>
Nombre de cas d'échec thérapeutique	4/29	3/29	7/29
Pourcentage	13,8%	10,3%	24,1%

Sur le plan de l'efficacité parasitologique

Il a été noté l'existence de souches résistantes à J 7, J 14, J 28, et J 60. Les taux de prévalence de la chloroquinorésistance à ces différents jours étaient :

- 2/29 (6,9%) à J 7 (R I précoce)
- 7/29 (24,1%) à J 14 (R I tardif)
- 7/29 (24,1%) à J 28 (R I tardif)
- 7/23 (17,3%) à J 60 (R I tardif)

III.1.6. Test de chimiosensibilité *in vitro*(DELI - test), au sulfate de chloroquine

Parmi les 56 témoins recrutés, les résultats du DELI – test *in vitro* ont été exploitables chez 47 d'entre eux, soit un pourcentage d'environ 78% de tests *in vitro* exploitables. La culture *in vitro* des plasmodiums chez ces patients pendant 48 heures était positive.

Ils s'agissaient de patients âgés de 18 à 43 ans (âge moyen 23,5 ans), avec une parasitémie variant entre 1690 et 56163 trophozoïtes/mm³. Le sexe ratio était de 29 hommes pour 18 femmes.

Les 9 autres malades ont été exclus, pour culture négative, révélée par le frottis de contrôle confectionné avec du sang prélevé au niveau du puits témoins qui ne contenait pas d'antipaludique. Leurs frottis après culture ne montraient

pas la présence de schizontes à la place des trophozoïtes contenus dans leur sang à l'inclusion. Donc il n'y avait pas de croissance parasitaire malgré le milieu de culture et l'absence d'antipaludique, d'où leur exclusion.

La CI 50 moyenne était de 277,9 nmole/l $\pm$ 353,3 avec des valeurs allant de 8,63 nmole à 2153,11 nmole/l, et une valeur médiane de 179,4 nmole/l. Les résultats obtenus ont montré une CI 50 supérieure à 100 nmole /l, chez 28 patients, soit un taux de résistance d'environ 59,6 %. Alors qu'il était de 34,6% en 2000.

Ce taux de résistance était de 19/29 soit 65,5% chez les sujets de sexe masculin et de 9/18 soit 50% chez ceux de sexe féminin.

III.1.6.1. Comparaison des résultats des tests couplés *in vivo* et *in vitro* à la chloroquine

Sur les 47 patients testés *in vitro*, 24 ont été parfaitement suivis *in vivo*. Soit au total 24 souches de *Plasmodium falciparum* testées avec la chloroquine à la fois *in vivo* et *in vitro*.

1.6.1.1. Taux de prévalence de la chloroquinorésistance

le tableau X montre que sur 24 souches testées, 5 soit 20,8% se sont révélées chloroquinorésistantes *in vivo*, et 13 soit 54,16% *in vitro*.

Tableau XIV : Taux de prévalence (nombre et %) des souches de *Plasmodium falciparum* chloroquinosensibles et chloroquinorésistantes obtenus avec les tests couplés *in vivo* et *in vitro* avec la chloroquine

	Testées	Sensibles		Résistantes	
	Nombre	Nombre	pourcentage	Nombre	Pourcentage
<i>In vivo</i>	24	19	79,2 %	5	20,8 %
<i>In vitro</i>	24	11	45,8 %	13	54,2 %

1.6.1.2. corrélation entre les résultats *in vivo* et *in vitro* (Tableau XV)

les résultats ont montré que parmi les 19 souches chloroquinosensibles *in vivo*, 11 se sont révélées chloroquinosensibles *in vitro* et 4 étaient chloroquinorésistantes *in vitro*.

Les 5 souches chloroquinorésistantes *in vivo* l'étaient aussi *in vitro*.

Ainsi on a noté que toutes les souches chloroquinosensibles *in vitro* se sont révélées chloroquinosensibles *in vivo*. Toutes les souches chloroquinorésistantes *in vivo* l'étaient également *in vitro*.

Une corrélation a été enregistré entre les réponses *in vitro* et *in vivo* avec 16 souches (41,7%). Des souches résistantes *in vitro* ont été sensibles *in vivo*,

leur fréquence par rapport à l'ensemble des souches testées était de 33,3% (8 sur 24).

Tableau XV : Comparaison des résultats des tests de sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine couplées *in vivo* (25 mg/kgp/3j) et *in vitro* par le Deli-test.

	Nombre	Pourcentage
Effectués	24	
Sensibles <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	11	45,8 %
Résistantes <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	5	20,8 %
Sensibles <i>in vivo</i> et résistantes <i>in vitro</i>	8	33,4 %

1.6.1.3. Caractéristiques des 8 souches résistantes *in vitro* et sensibles *in vivo* à la chloroquine.

Les 8 souches avaient des CI50 comprises entre 156,25 nmoles/l et 736,59 nmoles/l , avec une moyenne de 383,12 nmoles/l.

Les souches ont été isolées chez 4 patients de sexe masculin et autant de sexe féminin et leurs densités parasitaires à J 0 variaient entre 1690 et 46 612 P/μl de sang avec une moyenne de 18 560,75 P/μl de sang.

III.2. Etude des cas (sujets paludéens, VIH positifs)

III.2.1. La prévalence

Sur 55 patients VIH positifs examinés, 4 hébergeaient l'hématozoaire du paludisme (soit 7,3 %)

Parmi ces 4 patients, 3 ont été exclus, dont :

- ☞ 2 perdus de vue, et
- ☞ 1 cas de grossesse

Finalement un seul cas remplissait les critères d'inclusion. Soit un taux de prévalence de 1,8 %.

III.2.2. OBSERVATION

Le seul cas retenu est un malade âgé de 45 ans VIH-1 positif, de sexe masculin. Il est originaire de Dakar, et réside à Bargny au quartier Dielman.

Il faisait partie d'une cohorte de patients VIH positifs suivis par le Programme National de lutte contre le Sida au Sénégal (PNLS) au niveau du Centre de Traitement Ambulatoire (CTA) du CHU de Fann, où il avait une fiche de suivi.

Il a été reçu au service des maladies infectieuses le 31 décembre 2001 et il se plaignait de symptômes évocateurs d'un paludisme simple, confirmé par un examen biologique de goutte épaisse. Il répondait ensuite à tous les critères d'inclusion.

D'après l'interrogatoire, depuis un mois, Il ne prenait aucun antipaludique et ne dormait pas sous moustiquaire imprégnée d'insecticides, alors que ses portes et fenêtres n'étaient pas équipées de grillages. Il ne suivait pas de chimioprophylaxie au cotrimoxazole contre les infections opportunistes,

car il présentait une allergie a ce produit. Il prenait des vitamines (Princi B fort[®]). Le sujet n'a pas voyagé au cours des trois derniers mois.

Il était atteint de paludisme à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie de 12750 P/ μ l à J 0. Cette densité parasitaire est passée à 8425 P/ μ l à J 2 (soit une réduction de 34 %) et à 403 P/ μ l à J 3 (soit une réduction de 97%). Il n'y avait plus de parasites dans le sang du cas à J 7.

Les données cliniques montraient à J 0, la présence de fièvre, céphalées, frissons, nausée mais aussi d'algies diffuses.

Il présentait aussi à J 0 des adénopathies cervicale et inguinale, un ictère et une pâleur des muqueuses conjonctivales.

A J 0 sa température était de 37,9°C, sa fréquence cardiaque de 25 battements/mn, avec une tension artérielle systolique à 120mmHg et diastolique à 70mmHg. Il pesait 60 kg pour 1,75 m de mensuration. Son état général était jugé bon, son état de conscience était clair.

Sur le plan hématologique, les paramètres mesurés ont donné les résultats suivant :

Tableau XVI : Données hématologiques

PARAMETRES	CAS N=1
Hémoglobine	8,2 g/dl
Globules blancs	3600/mm ³
Globule rouge	2 440 000/mm ³
Hématocrite	22,3%

Le taux d'hémoglobine était de 8,2 g/dl, montrant ainsi une anémie. Le taux d'hématocrite était inférieur à 25% et le nombre de globules rouges était

abaissé ($2\,440\,000/\text{mm}^3$), de même que le nombre de globules blancs ($3600/\text{mm}^3$)

Les tests *in vivo* n'ont pas décelé d'échec thérapeutique chez le malade qui était sensible au traitement à la chloroquine.

Sur le plan de la résistance parasitologique il a été noté la présence d'une faible parasitémie à J 3 ($403\text{ P}/\mu\text{l}$) nécessitant un changement thérapeutique avec l'utilisation de l'association sulfadoxine - pyriméthamine en deuxième intention. Ceci a permis d'avoir une clairance parasitaire avant J 7.

Chez ce malade, la culture des plasmodiums était positive, et les résultats du microtest-DELI ont révélé une CI50 inférieure à 100 nmoles/l , donc une sensibilité *in vitro* à la chloroquine.

▪ **Evolution du taux des CD4 chez le cas**

Tableau XVII: Evolution du taux de CD4

J x	NOMBRE DE CD4
J 0	Non mesuré
J 14	$180/\mu\text{l}$
J 28	$118/\mu\text{l}$

Le taux de CD4 non évalué à J 0, est passé de $180/\mu\text{l}$ à J 14, à $118/\mu\text{l}$ à J 28.

▪ **Evolution de la charge virale chez le cas**

Tableau XVIII : Evolution de la charge virale

J x	CHARGE VIRALE
J 1	Non masurée
J 14	$> 500\,000\text{ copies / ml}$
J 28	$> 500\,000\text{ copies / ml}$

La charge virale, non évaluée à J 0, est restée supérieure à $500\,000\text{ copies/ml}$ à J 14 et J 28.

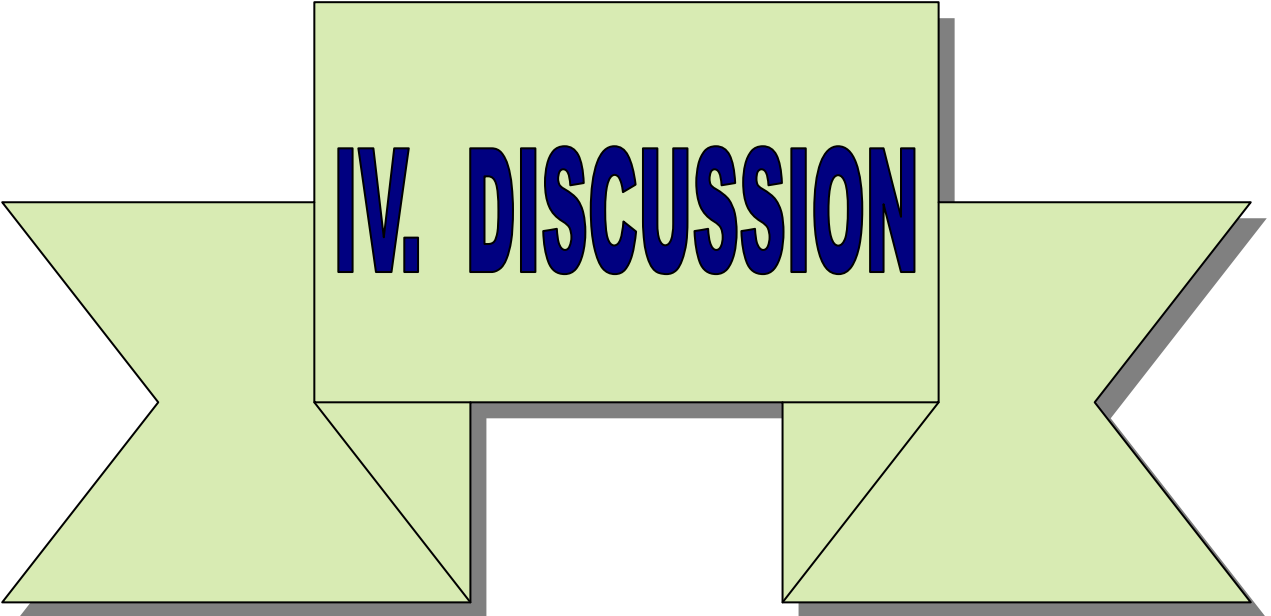
III.3. Génotype de *Plasmodium falciparum*

Après extraction de l'ADN parasite, et amplification de la portion du gène à étudier, nous avons noté une corrélation positive entre la présence de l'allèle T76 (crt/T76) et la résistance *in vivo* à la chloroquine. Il existait aussi une corrélation significative « *in vitro* » (DELI – Test) et la présence du même allèle.

72.7% des isolats avaient l'allèle résistant c'est à dire (T76) qui veut dire remplacement de la lysine (K) par la thréonine (T) au niveau du codon 76. Tous les patients ayant eu un échec thérapeutique, avaient l'allèle T76.

Le pfmdr1 N86Y ne présentait pas de corrélation avec la résistance a la chloroquine *in vitro*.

Cependant T76 était aussi présent au niveau de souches sensibles (DELI – Test).



IV. DISCUSSION

❖ **En ce qui concerne les témoins**, malgré les critères d'inclusion très sélectifs, nous avons réussi à recruter suffisamment de malades, 56 sur 175 soit une prévalence de 32%.

L'étude s'est déroulée en période hivernale qui est très favorable à la transmission du paludisme.

Concernant leurs signes cliniques, l'absence de fièvre ne semblait pas être un facteur écartant la survenue d'accès palustre chez les témoins, car à l'inclusion, 60,7% des patients étaient apyrétiques et au 4^e jour aucun malade n'était fébrile. Les sujets fébriles représentaient 39,3% de l'effectif, ce taux est supérieur à celui trouvé par SIDIBE [121], qui était de 31,3% au niveau de la même zone entre octobre 2000 et janvier 2001. Ailleurs au Congo, CHANDENIER et coll [25] avaient noté, au cours d'une enquête réalisée dans la région de Brazzaville en 1993, une valeur de 38,2 % de sujets fébriles.

Les céphalées ont été prédominantes, en effet 94,6% des témoins en souffraient à J0. Ensuite viennent les frissons qu'on pouvait retrouver chez 75% d'entre eux. Ces taux sont au dessus de ceux rapportés par Faye, [50] qui lors d'une étude menée en 1998 à Guediawaye avait noté des céphalées chez 60% des malades, des frissons chez 48%, et des douleurs abdominales chez 26%.

Cette différence s'expliquerait par le fait que notre étude a concerné uniquement les adultes, et que ces derniers contrairement aux enfants n'avaient pas de mal à exprimer ce qu'ils ressentaient.

S'agissant des signes biologiques :

- ❑ La seule espèce plasmodiale étudiée, était *Plasmodium falciparum*, comme d'autres études antérieures [55, 66, 69]. En effet, *Plasmodium falciparum*, est l'espèce la plus fréquente en Afrique tropicale où, selon les pays il est responsable de 80 à 100 % des cas d'infestation par des hématozoaires. Par ailleurs *Plasmodium falciparum* est la seule espèce plasmodiale à être

concernée par les problèmes de résistances aux antipaludiques en Afrique, raison pour laquelle, c'est elle qui a retenu notre attention.

- Pour les densités parasitaires à J 0 : dans notre étude, elles variaient chez les témoins entre 1690 et 56263 P/ μ l avec une moyenne de 18 167 P/ μ l. Ces fortes charges parasitaires à J 0 renseignent sur le caractère intense de la transmission dans cette zone des Niayes où les conditions écologiques sont favorables.

Il a été noté que 82,2% (46/56) de sujets avaient une densité parasitaire supérieure à 5000 P/ μ l de sang.

Le seuil de densité parasitaire pyrogénique avait été estimée par Gaye et coll. [54] à 5000 P/ μ l en 1987 en milieu urbain à Dakar et 10 000 P/ μ l en milieu rural à Diagobel (Casamance)

Ailleurs, au Burkina Faso, BAUDON et Coll. [15] ont évalué le seuil parasitaire à 10.000 ; et au Nigeria, SCHWATT [22] avançait un seuil parasitaire de 3890 P/ μ l chez les adultes en milieu urbain.

En matière d'efficacité thérapeutique, le traitement par la chloroquine (selon le protocole de l'OMS) initié chez 56 témoins et correctement suivi chez 29 d'entre eux a permis d'enregistrer un taux global d'échec thérapeutique de 24,1 % (7/29), reparti en 4 cas d'ETP et 3 cas d'ETT.

SY avait trouvé dans la période d'octobre 2000 à janvier 2001 un taux voisin (24,19%) à Pikine.

En matière de résistance parasitologique, 23 cas de chloroquinorésistance ont été enregistrés durant notre période d'étude. Ils étaient répartis comme suit : 2 résistances de niveau R I précoce et 21 de niveau R I tardif. Le taux de résistance à J 14 était de 24%. BAH [12] dans une étude rétrospective dans la région de Dakar (département de Dakar et de Pikine) avait noté pour la période de 1994 – 1995, une résistance globale voisine, qui était de 24,3 %.

La résistance est donc restée toujours élevée dans cette zone où elle avait dépassé les 30% en 1990 – 1991, atteignant 51,4 %, alors qu’il était de 8% en 1988 date de la découverte du premier cas de chloroquinorésistance à Pikine [12].

L’étude de la chimiosensibilité *in vitro* à la chloroquine, par le microtest – DELI, a permis d’enregistrer un taux de prévalence de souches de *Plasmodium falciparum* chloroquinorésistantes de 59,6 % (28 sur 47). Ce taux a subi des variations d’une période à l’autre, car il était de 36,4% en 2000 [43]. Il a également varié selon le sexe durant les deux périodes d’étude (avec respectivement 33,3 % et 65,5 % chez les sujets de sexe masculin et 40% et 50% chez les sujets de sexe féminin).

Les CI 50 ont varié de moins de 5,6 nmoles/l à plus de 1435 nmoles /l en 2000 et de 8,6 nmoles à plus de 2153 nmoles/l en 2001.

Par ailleurs, cette étude a permis d’enregistrer une CI50 moyenne de chloroquine de 277,93 nmoles/l ; cette valeur était en deçà de celle de la CI50 la plus élevée (2153,11 nmoles/l).

Au vu de ces résultats, il est possible de noter une progression de la chloroquinorésistance à Dakar, particulièrement dans le département de Pikine, ce qui pourrait expliquer les nombreux cas d’échec thérapeutique à la chloroquine actuellement observés dans la population.

Les facteurs qui nous semblent les plus incriminés dans l’évolution de la chloroquinorésistance sont : la pression de la chloroquine, forte à Pikine qui est une zone fortement médicalisée avec la présence de nombreuses officines et surtout du marché parallèle. D’autre part, l’introduction plus ou moins importante de souches de *Plasmodium falciparum* chloroquinorésistantes par le fait des mouvements de personnes, pourrait également expliquer ce type d’évolution de la chloroquinorésistance.

Les tests couplés *in vivo* / *in vitro* effectués sur 24 souches de *Plasmodium falciparum*, ont permis d'enregistrer un taux de prévalence des souches chloroquinorésistantes plus élevé *in vitro* qu'*in vivo* : 54,2 % contre 20,8%.

Pour la détection des souches chloroquinorésistantes, les tests *in vitro* se sont révélés plus sensibles que les tests *in vivo*. En effet, 8 souches chloroquinorésistantes *in vitro* étaient chloroquisensibles *in vivo* avec un test de 28 jours.

Comme l'a déjà noté BAH [12] dans une étude antérieure au niveau de la même zone, notre étude a montré elle aussi que toutes les souches chloroquinosensibles *in vitro*, l'ont été également *in vivo*. Ce qui suggère que, dans la zone d'étude et à la même période, les cas de résistance de niveau R I tardif seront dus à une recrudescence de la parasitémie plutôt qu'à une réinfestation.

✠ **En ce qui concerne la co-infection paludisme et infection à VIH,** s'agissant de la prévalence du paludisme, sur 55 patients étudiés, 4 avaient présenté une goutte épaisse positive soit une prévalence de 73% mais 2 ont été perdus de vue et une était en état de grossesse. Ainsi parmi ces 4 patients un seul a été finalement retenu en fonction des critères d'inclusion soit 1,8% (1/55).

Ce faible taux de prévalence s'expliquerait, en dehors du fait que les critères d'inclusion et d'exclusion étaient très sélectifs, par un taux de séroprévalence relativement faible au Sénégal (environ 2%). Il y a aussi l'effet possible du cotrimoxazole (sulfaméthoxazole- triméthoprine) sur la prophylaxie du paludisme. En effet contre les infections opportunistes, la chimioprophylaxie au cotrimoxazole est recommandée chez les adultes symptomatiques et les enfants vivant avec le VIH en Afrique. Il a été documenté que le cotrimoxazole aurait un effet comparable à celui du Fansidar® (sulfadoxine-pyriméthamine) sur les parasites du paludisme, et cela pourrait expliquer le fait que, le seul cas

recruté soit un patient qui n'était pas sous prophylaxie au cotrimoxazole pour cause d'allergie à ce produit.

Il existe quelques preuves de la résistance croisée de *Plasmodium falciparum* entre la triméthoprine et la pyriméthamine au niveau moléculaire (31MH), ce qui suggère que les individus utilisant le cotrimoxazole en prophylaxie devraient prendre un traitement antipaludique autre que le Fansidar.

Plus de recherche est nécessaire pour établir si la prophylaxie au cotrimoxazole chez les adultes et les enfants vivant avec le VIH en zone d'endémie palustre est une bonne idée ou non. Agira-t-il efficacement dans la prophylaxie du paludisme aussi bien que dans la prévention d'autres infections bactériennes et parasitaires ou son utilisation pressera-t-elle simplement le développement de paludisme résistant au Fansidar? Ce dernier étant actuellement utilisé comme antipaludique de première intention dans beaucoup de pays en Afrique subsaharienne qui détiennent les taux de séroprévalence les plus élevés.

La température axillaire mesurée à J 0 chez le sujet co-infecté était de 37,9°C. Plusieurs auteurs ont noté que la fièvre était présente chez la plupart des patients présentant l'association paludisme/infection à VIH [53, 89]. En zone tropicale, même si la paludisme est souvent suspecté en cas de fièvre, celle – ci est quelquefois le symptôme d'une infection opportuniste chez les sujets vivants avec le VIH [53, 63, 84].

D'autres études ont été menées sur la co-infection paludisme - infection à VIH/Sida ailleurs en Afrique

- ☞ Au Malawi, des études ont montré que la goutte épaisse était négative chez plusieurs patients fébriles [89].
- ☞ Au Zaïre [92], en milieu urbain une étude menée sur des patients âgés de 1 à 13 ans vus à l'hôpital, a révélé que 28,2 % des sujets co-infectés étaient fébriles, contre 46,5 % des sujets paludéens qui étaient fébriles.

- ☞ En Tanzanie rurale [11] une étude réalisée sur des patients âgés de 18 à 41 ans avait trouvé 47% de sujets co-infectés fébriles, contre 3,3% de sujets paludéens fébriles. C'est la seule étude qui a décelé une fréquence significativement accrue de la fièvre chez les adultes VIH positifs.

Une revue d'études cliniques réalisées entre 1986 et 2000 (**Tableau XIX**) n'a pas permis de trouver une liaison convaincante et cohérente entre les deux infections, à l'exception d'un taux accru de paludisme placentaire chez les femmes enceintes infectées par le VIH[124]. Cependant il y a plusieurs de ces études sur le plan clinique chez des enfants et des adultes qui n'ont révélé aucune interaction d'importance clinique majeure entre l'infection à VIH et le paludisme [1, 68, 88, 92,123]. Ces résultats doivent être évalués avec prudence car l'interférence avec l'acquisition de l'immunité antipalustre chez les enfants n'est pas comparable avec la perte de l'immunité spécifique chez les adultes.

Deux études de paludisme grave au Burundi et en Zambie en zone urbaine ont trouvé des proportions de cas mortels plus importants chez les adultes HIV-1 positifs, mais le nombre de cas dans les deux études était faible [74, 94]. Une étude réalisée au Malawi avait montré que la mortalité infantile postnatale a été considérablement augmentée lorsque la mère avait à la fois une infection à VIH-1 et le paludisme, comparé aux enfants en bas âge de mères n'ayant que l'une ou l'autre infection seulement [17].

♦ Sur le plan biologique ;

✓ Concernant la sérologie, seul le VIH 1 est retrouvé chez le cas co-infecté. L'infection par le VIH-1 cause une immunodépression cellulaire progressive et n'importe quel dommage résultant de la réaction immunitaire au paludisme pourrait être associé à l'échec d'empêcher l'infection ou de supprimer la parasitémie et le paludisme clinique.

Tableau XIX: Resultats d'études cliniques de l'association paludisme et infection à VIH

Lieu d'étude	Année	Type d'étude	Nombres	Taux(a)/ prévalence(b) /ratio(c)	Effet du HIV sur le paludisme	Référence
Zaïre hôpital urbain	1986	Etude transversale d'enfants	HIV+ 40 HIV- 1006	37,5% 52,2%	Pas de différences significatives	[92]
Zambie clinique urbaine	1987	Etude transversale d'adultes	HIV+ 28 HIV- 142	29%(a) 42%	Pas de différences significatives	[123]
Uganda hôpital urbain	1987-9	Etude rétrospective chez des adultes	HIV+ 737 HIV- 372	19,3%(a) 15,6%	Pas de différences significatives	[88]
Rwanda hôpital urbain	1986-7	Etude transversale de femmes non enceintes	HIV+ 955 HIV- 2371	9,6%(a) 8,9%	Pas de différences significatives	[1]
Zaïre hôpital urbain	1986-7	Cohorte d'enfants	HIV+ 59 HIV- 83	2080(b) 1470	Augmentation limite de la parasitémie et de la fièvre	[59]
Zaïre hôpital urbain	1986-7	Cohorte principalement d'enfants	HIV+ 112 HIV- 501	558(b) 437	Augmentation limite de la parasitémie et de la fièvre	[29]
Uganda hôpital urbain	1995	Cohorte d'enfants	HIV+ 77 HIV- 357	433(b) 523	Pas de différences significatives	[68]
Tanzanie clinique rurale	1991	Etude transversale d'adultes	HIV+ 62 HIV- 238	90%(a) 27%	Augmentation significative de la parasitémie et de la fièvre	[11]
Burundi zone rurale	1991-2	séries de cas adultes	HIV+ 12 HIV- 19	33%(c) 16%	Augmentation du ratio de cas mortels	[94]
Zambie zone rurale	1986-8	séries de cas adultes	HIV+ 8 HIV- 19	25%(c) 10,5%	Augmentation du ratio de cas mortels	[74]
Malawi clinique rurale	1987-9	cohorte de femmes enceintes	HIV+ 152 HIV- 2601	54,4%(a) 41,7%	Augmentation significative de la densité	[124]

					parasitaire.	
Uganda clinique rurale	1990-8	cohorte d'adultes	HIV+ 222 HIV- 262	11,8%(a) 6,3%	Augmentation significative du paludisme clinique et de la parasitémie.	[131]
Uganda clinique urbaine	1995-8	cohorte d'adultes	HIV+ 1371	109(b)	Augmentation du paludisme clinique avec les taux de CD4 les plus bas.	[52]
Uganda hôpital urbain	2000	Etude cas - témoins de patients adultes externes	HIV+ 65 HIV- 126	21,5%(a) 15,3%	Augmentation significative du paludisme clinique et de la parasitémie.	[51]

(a): prévalence de la parasitémie.

(b): épisodes de paludisme pour mille personnes observées par an.

(c): cas mortels (ratio)

Cependant des études ont montré que quelques composantes de la réaction immunitaire humaine au *Plasmodium falciparum* sont modifiées par le VIH-1, mais que d'autres sont inchangées [86, 126]. D'autre part il a été constaté que *Plasmodium falciparum* entraîne la stimulation de la reproduction de cytokines (IL6 et le TNF – ALPHA) par les lymphocytes actives [132]. Il a aussi été noté qu'il augmentait le réservoir potentiel de HIV dans le placenta en augmentant le nombre de macrophages CCR5 – POSITIFS.

✓ Pour la densité parasitaire, elle était de 12750 P/l à J 0.

En Ouganda une étude menée sur des sujets âgés de plus de 13 ans a montré que seul 5 % des sujets présentant la co-infection paludisme/infection à VIH avaient une parasitémie qui était supérieure à 5000 P/µl de sang [88].

Des études menées au Malawi [124, 125] ont révélé que les parasitémies les plus élevées, dans les cas de co-infection paludisme/infection à VIH ont concerné les femmes enceintes, surtout les femmes VIH positifs multigrades.

Deux autres études ont été menées en Ouganda, selon la première, [131] la parasitémie et les accès de paludisme étaient au moins deux fois plus fréquents chez les sujets séropositifs que chez les adultes séronégatifs. Et que les chances d'avoir le paludisme clinique ont augmenté avec la progression de l'infection à VIH. Les densités parasitaires ont tendance à être plus élevées chez les sujets avec des taux de CD4 bas. L'étude a montré que l'infection à VIH-1 était associée à une fréquence accrue de la parasitémie et du paludisme clinique. Selon la deuxième étude, [52] les densités parasitaires étaient plus élevées chez les sujets avec un taux de CD4 bas. Les taux d'incidence de *Plasmodium falciparum* avait significativement augmenté avec l'immunodépression profonde.

Les résultats de ces deux études ont mené à la conclusion importante, que ce n'est pas l'infection à VIH en soi, mais plutôt la réaction immunitaire cellulaire

diminuante associée à l'infection à VIH avancée, qui aboutit à l'exacerbation des signes cliniques de paludisme.

Sur le plan thérapeutique, une réponse clinique et parasitologique adéquate au traitement à la chloroquine est notée chez le cas.

Deux études faites au Zaïre[29] en 1990, et au Rwanda [1] en 1991 n'ont trouvé aucune différence de réponse au traitement antipaludique chez les enfants infectés par le VIH comparés à ceux non infectés.

Cependant, une résistance parasitaire à J 3 (403 P/µl) chez le cas co-infecté a conduit au changement thérapeutique. L'association sulfadoxine–pyriméthamine est donnée en deuxième intention (3 cp en prise unique). Ceci a permis d'obtenir une clairance parasitaire deux jours plus tard, à J 5.

Pour ce qui est du test chimiosensibilité *in vitro* à la chloroquine, elle a révélé, une sensibilité de la souche à la chloroquine.

♦ En ce qui concerne l'influence du paludisme sur l'évolution du taux des CD4 et la charge virale :

- ✓ Le cas recruté a bénéficié d'un décompte des CD4 à J 14 et J 28, ce qui a permis de déceler une immunodépression avancée ($< 200 \text{ CD4/mm}^3$) avec un taux de CD4 de $180/\text{mm}^3$ à J 14 et de $118/\text{mm}^3$ à J 28 montrant ainsi une diminution du taux entre la deuxième et la quatrième semaine.

L'état d'immunodépression avancée pourrait donc entraîner une susceptibilité accrue à développer le paludisme. Diop avait trouvé dans son étude menée au CHU de Fann que 8 patients co-infectés sur 10 ayant bénéficié d'un typage des CD4 avaient un taux de $\text{CD4} < 200 \text{ CD4/mm}^3$ [45].

Par ailleurs, certains auteurs ont noté l'augmentation du nombre de CD4 chez les patients présentant l'association paludisme/infection à VIH sous traitement à la chloroquine. Et cette augmentation pourrait persister pendant au moins deux ans [61].

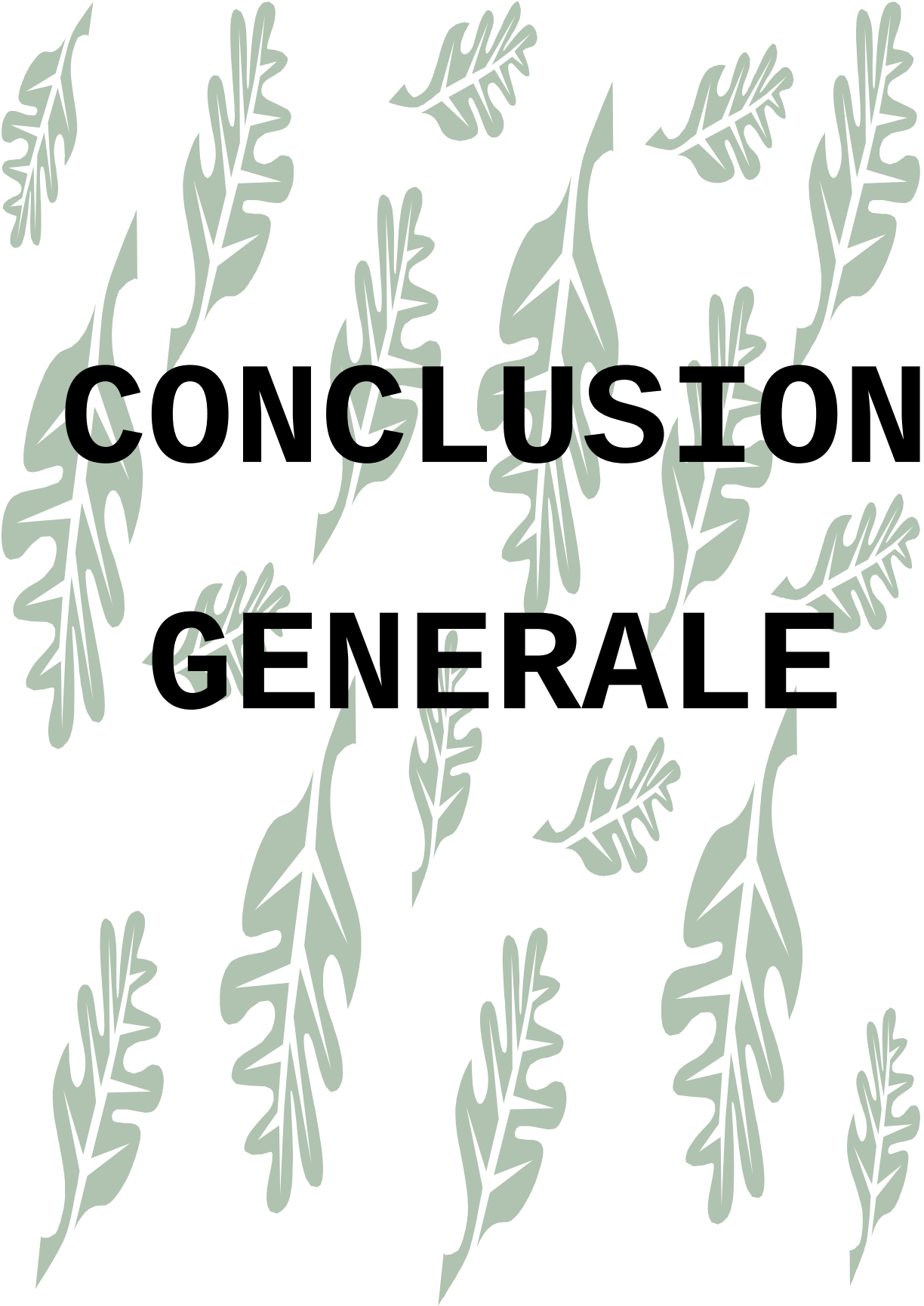
Une étude réalisée en Ouganda [131] avait révélé une corrélation entre l'évolution de la densité parasitaire et du taux de CD4, avec des taux de CD4 inférieurs à 200CD/mm³ de sang.

Contrairement au taux de CD4, la charge virale n'a pas varié entre la deuxième et la quatrième semaine. Elle est toujours supérieure à 500 000 copies. Dans une étude réalisée en Guinée – Bissau, la mesure des charges virales n'a montré aucune différence dans la progression de l'infection à VIH-2 chez des adultes avec ou sans parasitémie [10] . Cependant une importante étude effectuée au Malawi avait montré que le paludisme à *Plasmodium falciparum* stimule la réplication virale du VIH-1 par le biais d'une production accrue par les lymphocytes activés de cytokines. Ainsi les charges virales du plasma en VIH-1 étaient significativement plus élevées chez les patients atteints de paludisme que chez les non paludéens, et elles restaient élevées pour au moins quatre semaines après le traitement [62]. L'étude suggère que le paludisme puisse causer une progression plus rapide de l'infection à VIH.

Enfin pour le génotype de *Plasmodium falciparum* ; l'extraction de l'ADN parasite, et l'amplification de la portion du gène à étudier, nous ont permis de noter une corrélation positive entre la présence de l'allèle T76 (crt/T76) et la résistance *in vivo* à la chloroquine. On a noté aussi l'existence d'une corrélation significative « *in vitro* » (DELI – Test) et la présence du même allèle.

Par contre, l'allèle T76 observé *in vitro* en cas de résistance était aussi présent au niveau de souches sensibles (DELI – Test). Ceci suggère que des mutations additionnelles telles que le *Pf mdr 1* pourraient être nécessaires pour conférer la résistance.

Des études futures devront inclure des enfants avec une amélioration notable du suivi des patients de même que l'évaluation d'autres polymorphismes génétiques pouvant intervenir dans la résistance à la chloroquine.

The background of the page is decorated with a pattern of stylized green oak leaves. The leaves are scattered across the page, with some appearing larger and more prominent than others. They are rendered in a light green color with white outlines, giving them a delicate, almost ethereal appearance. The leaves are oriented in various directions, some pointing upwards, some downwards, and some horizontally, creating a sense of natural growth and movement.

CONCLUSION GENERALE

L'une des caractéristiques essentielles de l'infection à VIH en zone tropicale est son association fréquente avec les maladies parasitaires (et infectieuses en général). Ainsi une étude de la co-infection, paludisme et Infection à VIH garde une importance particulière, vue la prépondérance du paludisme dans ces zones où il cause d'innombrables pertes en vies humaines.

C'est dans cette optique que nous avons mené une étude cas - témoins de l'interaction paludisme/infection à VIH, dans la région de Dakar, du 09 septembre au 31 décembre 2001. Les cas étaient des sujets infestés par le VIH et atteints de paludisme non compliqué et les témoins étant les sujets paludéens séronégatifs.

- ◆ Les objectifs principaux de notre étude étaient :
- ◆ la détermination des taux de prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* chez les cas et les témoins
- ◆ l'évaluation de la chloroquinorésistance (*in vivo* et *in vitro*) de *Plasmodium falciparum* chez le cas et les témoins ,
- ◆ la détermination de l'effet du paludisme sur la charge virale et le taux de CD4
- ◆ - la détermination des gènes de résistance de *Plasmodium falciparum* (cas et témoins) à la chloroquine .
- ◆ et enfin la formulation de recommandations .

Le recrutement des témoins au dispensaire municipal de Pikine, a porté sur des sujets âgés d'au moins 18 ans présentant un paludisme simple à *Plasmodium falciparum* exclusivement, avec une parasitémie supérieure ou égale à 1000 trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* par microlitre de sang. Et la recherche d'ammino – 4 – quinoléine dans les urines avec le test de DILL et GLAZKO devait être négative.

Tous les témoins recrutés sur la base de critères d'inclusion rigoureux ont été selon les circonstances soumis soit aux tests *in vivo*, soit aux tests *in vitro* ou aux deux à la fois.

Pour les tests *in vivo*, le traitement a consisté à administrer la dose totale de chloroquine base de 25 mg/kg, répartis en 3 jours : 10 mg/kg le premier jour, 10 mg/kg le deuxième jour et 5 mg/kg le troisième jour.

S'agissant des tests *in vitro*, c'est le microtest-DELI, très sensible, présentant une bonne corrélation avec le test isotopique (95%) qui a été utilisé.

Les tests couplés *in vivo* / *in vitro* ont concernés 24 témoins.

Pour le génotypage de *Plasmodium falciparum*, nous avons utilisé la méthode PCR après extraction de l'ADN par la méthode du « PHENOL CHLOROFORME ISOAMYL ».

D'après nos résultats, chez les témoins :

En ce qui concerne la prévalence, 56 patients ont été recrutés sur 175 examinés, soit une prévalence d'environ 32 %. Ils vivaient tous en milieu urbain à Pikine, et leurs âges variaient entre 18 et 46 ans avec une moyenne d'âge de 24,3 ans. Ils étaient pour la majorité, de sexe masculin 35/56 soit 62,5%. 39,3% (22/56) d'entre – eux étaient fébriles à J 0.

Sur le plan parasitologique, *P. falciparum* était la seule espèce étudiée, et la densité parasitaire moyenne retrouvée chez les témoins était de 18 167P/µl.

S'agissant des tests *in vivo*, ils ont été conduits avec succès chez 29 des 56 témoins recrutés soit 52%. Ce qui a permis d'enregistrer 7 cas d'échec thérapeutique soit un taux global de 24,1%.

La clairance parasitaire était de 76% à J 14.

Pour ce qui est des tests *in vitro*, ils ont été menés avec succès sur 47 souches parmi les 56 recrutés (soit 84%). Ceci a permis d'enregistrer un taux global de souches résistantes de 59,6% alors qu'il était de 36,4% en 2000.

Par ailleurs, les tests couplés *in vivo* et *in vitro* à la chloroquine ont montré que toutes les souches qui ont été sensibles *in vitro* l'étaient aussi *in vivo*, mais qu'il y avait plus de souches résistantes *in vitro* qu'*in vivo*. C'est un résultat généralement enregistré dans les zones où les populations ont un certain degré de prémunition qui accroît l'effet des antipaludiques.

S'agissant de l'association paludisme et infection à VIH/Sida :

Leur recrutement a été effectué à Dakar au Centre de Traitement Ambulatoire du service des maladies infectieuses du CHU de Fann, parmi les patients séropositifs venus consulter pour des signes évocateurs de paludisme simple.

La prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* a été observée chez 4 patients VIH positifs parmi les 55 examinés. Parmi ces 4 malades, une était en état de grossesse, et 2 ont été perdus de vue. Donc finalement un seul cas de co-infection paludisme/infection à VIH a été retenu soit une prévalence de 1,8%.

Ce faible taux de prévalence montre une rareté du paludisme chez les sujets VIH positifs. Mais les critères d'inclusion assez sélectifs et la chimioprophylaxie au cotrimoxazole pouvaient être incriminés.

Le cas recruté était de sexe masculin, et âgé de 45 ans. Il ne suivait pas de chimioprophylaxie au cotrimoxazole contre les infections opportunistes, pour cause d'allergie à ce produit. Sa densité parasitaire était de 12750 P/ μ l à J 0, et il était fébrile.

Pour les tests *in vivo*, nous avons noté une bonne efficacité thérapeutique de la chloroquine chez ce sujet.

Concernant les tests de chimiosensibilité *in vitro*, une CI50 inférieure à 100nmol/l (seuil de sensibilité) est enregistrée chez le cas.

En conclusion de ce travail, nous pouvons dire que le taux de prévalence du paludisme est très faible (1,8%) chez les sujets séropositifs, par rapport aux témoins (32%). Ceci pourrait s'expliquer par la chimioprophylaxie au cotrimoxazole, et les critères de recrutement très sélectifs.

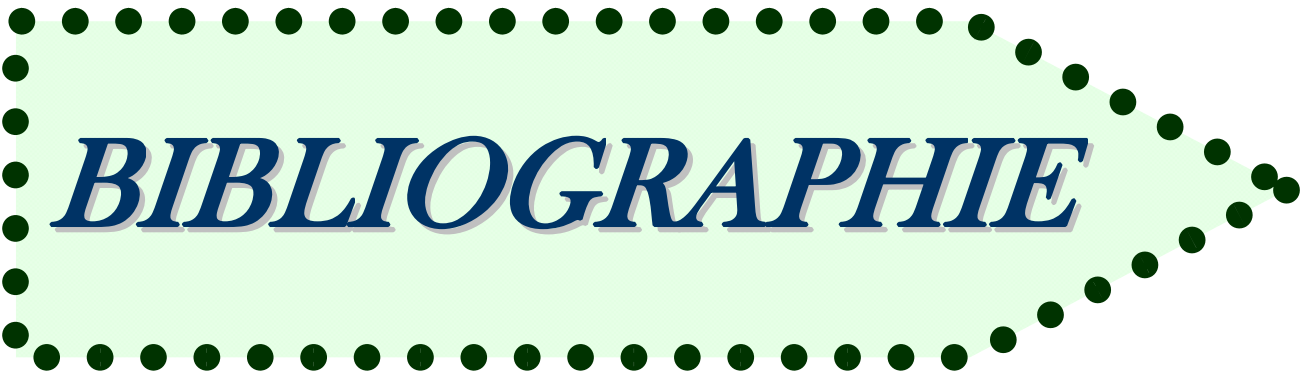
Le nombre très limité de cas (1 cas), ne nous a pas permis de faire une comparaison de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine chez les cas et témoins.

Ainsi pour ce qui est de l'influence du paludisme sur le taux de CD4 et la charge virale, une conclusion ne saurait être tirée dans notre étude. Mais nous avons noté une immunodépression avancée (<200CD/mm³), pouvant expliquer une susceptibilité accrue à développer le paludisme.

Pour ce qui est du génotypage de *Plasmodium falciparum*, le marqueur de la résistance (pfcrt K76T) est fréquemment retrouvé dans les isolats de *Plasmodium falciparum*.

Cependant au vu de l'augmentation de la chloroquinorésistance *in vitro* qui de 36,4 % en 2000 est passée à 59,6% en 2001, et des nombreux cas d'échec thérapeutique qui avoisinent les 25%, il serait opportun d'envisager l'abandon de cette molécule dans le traitement de première intention du paludisme dans cette zone.

Aussi vu l'effet du cotrimoxazole sur le paludisme qui serait comparable à celui de l'association sulfadoxine – pyriméthamine, il serait intéressant d'étudier les gènes de résistance de *Plasmodium falciparum* à la pyriméthamine.



BIBLIOGRAPHIE

1. **ALLEN S., VAN DE PERRE P., SERUFILIRA A., LEPAGE P., CARAEL M., DECLERCQ A., TICE J., BLACK D., NSENGUMUREMYI F., ZIEGLER J., et al.**

Human immunodeficiency virus and malaria in a representative sample of childbearing women in Kigali, Rwanda.

J Infect Dis. 1991 Jul,164(1):67-71.

2. **AMBROISE – THOMAS P.**

Physiopathologie, réceptivité, résistance innée.

In paludisme Edition Marketing Ellipse/AUPELF, 1991, 60 – 65

3. **AMBROISE – THOMAS P., PINEL C., PELLOUX H., PICOT S.**

Le diagnostic du paludisme : actualités et perspectives

Cahiers Santé, 1993, 3, 280 – 284

4. **AMBROISE – THOMAS P.,CARNEVALE P., FELIX U., MOUCHET J.**

Le Paludisme

Encycl. Méd. Chir (France), Maladies infectieuses A 10 et A 20, 9, 1984 (26 et 17 p)

5. **AMRAOUI A., BURGOS V., ALEXANDRE J.Y.**

Bouffée délirante aiguë au cours d'un traitement par méfloquine : à propos d'une observation.

Méd Mal Infect :1998, 28 : 678-9.

6. **ANAND R., REED C., FORLENZA S. ET AL. (1987)**

Non – cytotoxic natural variants of human immunodeficiency virus isolated from AIDS patients with neurological disorders.

Lancet, 2 : 234 – 238.

7. **Anonyme.** Le paludisme dans le monde.

[http : // astrium. Com/maladies :visa09-6. html](http://astrium.Com/maladies :visa09-6. html) : 11/2000.

8. ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le SIDA)

Traitements antirétroviraux chez les personnes infectées par le VIH.

Recommandations actualisées : ARNS, RARS, 2000, 5-8.

9. APPIT, « SIDA et infections à VIH ».

In : APPIT, ed. E. PILLY. Montmorency : 2M2, 1996 : pages 390 – 402

10. ARIYOSHI K., BERRY N., WILKINS A., RICARD D., AABY P., NAUCLER A., NGOM P.T., JOBE O., JAFFAR S., DIAS F., TEDDER R.S., WHITTLE H.

A community-based study of human immunodeficiency virus type 2 provirus load in rural village in West Africa.

J Infect Dis. 1996 Jan,173(1):245-8.

11. ATZORI C., BRUNO A., CHICHINO G., CEVINI C., BERNUZZI A.M., GATTI S., COMOLLI G., SCAGLIA M.

HIV-1 and parasitic infections in rural Tanzania.

Ann Trop Med Parasitol. 1993 Dec,87(6):585-93.

12. BAH I. B.

Evolution de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* Welch aux antipaludiques de 1987 à 1995 à Dakar (Sénégal)

Thèse es sciences pharmaceutiques, Dakar, 2000, n°16

13. BAMBER M.G., ELDER A.T., GRAY J.A., MINNS R.A.

Fatal Stevens-Johnson syndrome associated with Fansidar and chloroquine.

J. Infect. 1986, 13 : 31-33.

14. BATHILY F.

Aspects épidémiologiques et socio – comportementaux de la transmission sexuelle de l'infection à VIH chez les couples hétérosexuels

Thèse Méd., Dakar, 2001, n°47

15. BAUDON D., GAZIN P., SANOU J. P.

Morbidité palustre en milieu rural au Burkina Faso, étude de 526 accès fébriles.
Med. D'Afrique Noire, 1986, 33 (11), 767-776.

16. BERGAL J., NOIRES J.M, ROSENHEIM M., PARA F. F, PEIGNOT J.F

Paludisme : préparation aux certificats et au concours de l'internat
Edition Spéciale Janvier 1987

17. BLOLAND P.B., WIRIMA J.J., STEKETEE R.W., CHILIMA B., HIGHTOWER A., BREMAN J.G.

Maternal HIV infection and infant mortality in Malawi: evidence for increased mortality due to placental malaria infection.
AIDS. 1995 Jul,9(7):721-6.

18. BOSCO L. K, LE BRAS J.

Plasmodium falciparum : in vitro drug interaction between chloroquine and enantiomers of amlodipine.
Exp. Parasitol, 1991, 72, 262 – 70

19. BRADDICK M., Taelman H., CORNET P. ET AL. (1987)

Congenital transmission of HIV in Nairobi, Kenya.
Abstract, Third International Conference on AIDS, Washington, D. C.

20. BRANDLING – BENNETT A.D., OLOO A.J., WATKING W.M., BORIGA D.A., KARIUKA D.M., COLLINS W.E.

Chloroquine treatment of *falciparum* malaria an area of Kenya of intermediate chloroquine resistance.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1988, 82 (6), 833 – 837.

21. BRICAIRE F., SALMON D., DANIS M., GENTILINI M.

Antipaludiques et grossesse.
Bull. Soc. Path. Exot. 1991, 84 : 721-738.

22. BRUCE SCHWATT L. J.

Paludisme et urbanisation.

Bull. Soc.Path. Exo. 1993, 76 (3) : 243 - 249.

23. BUNNAG D., KARBWANG J., VIRAVAN C. et Coll.

Clinical trials of mefloquine with tetracycline.

Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 1992, 23 : 377-382.

24. BUNNAG D., MALIKUL S., CHITTAMAS S. et Coll.

Fansimef for prophylaxis of malaria : a double-blind randomized placebo controlled trial.

Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 1992, 23 : 777-782.

25. CHANDENIER J., NDOUNGA M., CARME B.

Chimiosensibilité *in vivo* de *Plasmodium falciparum* à Brazzaville (Congo)

Cahier Santé, 1995, 5, 25 – 29

26. CHEN I.S.Y.

Regulation of AIDS virus expression (1986)

cell, 47 : 1 – 2.

27. CISSE M.

Evaluation de la morbidité palustre et de l'efficacité de la chloroquine dans le traitement des accès simples à *Plasmodium falciparum* à Tambacounda

Thèse n°46 1997

28. CLAVEL F. (1987)

HIV – 2, the West African AIDS virus.

AIDS, 1 : 135 - 140.

29. COLEBUNDERS R., BAHWE Y., NEKWEI W., RYDER R., PERRIENS J., NSIMBA K., TURNER A., FRANCIS H., LEBUGHE I., VAN DER STUYFT P., et al.

Incidence of malaria and efficacy of oral quinine in patients recently infected with human immunodeficiency virus in Kinshasa, Zaire.

J Infect. 1990 Sep, 21(2):167-73.

30. COULAUD J. P.

La prophylaxie du paludisme : protection mécanique et chimique des individus
Cahiers Santé 1993, 3, 315 – 22

31. COULAUD J. P.

Résistance en Afrique, Aspects généraux

Publications médicales Africaines, numéro spécial, 1988, 21 : 18 – 24

32. COWMAN A. F.

The P. glycoprotéine homologue of P. falciparum : are they involved in chloroquine résistance ?

Parasitol Today : 1991, 7 : 70 – 6

33. CRANS.

Infection par le VIH et le SIDA : historique, définition et classification dans les aspects récents des maladies sexuellement transmises.

Sous la direction de Libert M. H. et Van Waeyenbergh J.

Beaurechain : Nauwelaerts Paris : Frison – Roche, 1993, **61**, 1 – 2 : 353 – 361

34. DANIS M.

Généralités sur les résistances dans le monde

Publ. Méd Afr., Paris, 1988, N°Spécial, 13 – 16

35. DANIS M., GENTILINI M.

Chimioprophylaxie du paludisme. Problèmes de résistance.

Arch. Fr. Pédiatr. 1985, **42 suppl 2** : 971-975.

36. DEBACKER M. J.

Paludisme: historique, mythes, croyances et idées reçues

Thèse médecine 2000

Créteil (Paris XII)

http://www.astrium.fr/grand_dossier/paludisme/paludisme_these.htm#_Toc498986422

37. DENIAU M.

Paludisme

Revue du Praticien, 15 nov. 1995, Tome 45, n°18

38. DIALLO M.S.B.

Accès palustres et leur traitement par la quinine en milieu hospitalier

Thèse de Doctorat en pharmacie, Dakar, 1997 n°69

39. DIALLO P.A.N.

Intérêt de la β_2 -microglobuline dans le suivi biologique des sujets infectés par le VIH-1 sous traitement antirétroviral.

Thèse de doctorat en Pharmacie, Dakar, 2002, N°18.

40. DIALLO S.

Etude de l'endémie palustre dans le département de Dakar – Résultats obtenus dans le district sanitaire Sud.

Rapports d'activités, LAF, service parasitologie, 1994 – 1995

41. DIAW P.A.

Suivi biologique des patients VIH positifs au Sénégal : évaluation d'une technique alternative de numération des lymphocytes T CD4+, le "DYNABEADS"

Thèse de doctorat en Pharmacie, Dakar, 2001, N°123.

42. DIENG P.M

Paludisme grave de l'adulte en pathologie infectieuse

Thèse Médecine, Dakar, 1998, n°41

43. DIENG Th., BAH I.B., DIENG Y., DIALLO I., NDIAYE P.M., FAYE O., GAYE O., BRASSEUR P., NDIR O.

Evaluation de la sensibilité *in vitro* de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine à Pikine – region de Dakar, Sénégal) par un test colorimétrique (DELI-microtest)
 5^e congrès de la SOAP (Société Ouest Africaine de Parasitologie) &
 1^{er} congrès de la SABC (Société Africaine de Biologie Clinique), Dakar, 10-14
 avril 2002

44. DIONGUE O.

Evaluation quantitative et qualitative des examens parasitologiques effectués
 au laboratoire du centre de Santé de Fatick de 1996 à 2000
Thèse pharmacie Dakar, 2001, n°78

45. DIOP I.

Etude du paludisme chez les personnes vivant avec le VIH
 (Etude menée au CHU de Fann)
Thèse pharmacie 2001, Dakar n°15

46. DRUILHE P., MORENO A., BLANC C., BRASSEUR Ph., JACQUIER P.

A colorimetric *in vitro* sensitivity for *Plasmodium falciparum* based on a
 highly sensitive double – site lactate dehydrogenase antigen capture enzyme –
 linked immunosorbent assay
Am. J. Trop. Med. Hyg., 2001, 64, 233 - 241

47. EZEDINACHI E.N., EKANEM O.J., CHUKWUANI C.M. et Coll.

Efficacy and tolerability of a low-dose mefloquine-sulfadoxine-pyrimethamine combination compared with chloroquine in the treatment of acute malaria infection in a population with multiple drug-resistant *Plasmodium falciparum*.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999, **61** : 114-119.

48. FALASCHI F., ANSALONI L.

Chloroquine versus pyrimethamine/ sulphadoxine in the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in northern Kenya.
East Afr. Med. J. 1997, **74** : 275-277.

49. FAUCI A. (1987)

AIDS : immunopathologic mechanisms and research strategies.
Clin. Res., 35 : 503 – 510

50. FAYE B.

Morbidité palustre et évaluation de l'efficacité de la sulfadixine-pyriméthamine et de la quinine dans le traitement des accès à *Plasmodium falciparum* au centre de santé Roi Baudin de Guédiawaye.
Thèse Med : Dakar, Mai 1998, n°23

51. FRANCESCONI P., FABIANI M., DENTE M.G., LUKWIYA M., OKWEY R., OUMA J., OCHAKACHON R., CIAN F., DECLICH S.

HIV, malaria parasites, and acute febrile episodes in Ugandan adults: a case-control study.
AIDS. 2001 Dec 7,15(18):2445-50.

52.FRENCH N., NAKIYINGI J., LUGADA E., WATERA C., WHITWORTH J.A., GILKS C.F.

Increasing rates of malarial fever with deteriorating immune status in HIV-1-infected Ugandan adults.
AIDS. 2001 May 4,15(7):899-906.

53. GALLO R. C.

Human retrovirus : a decade of discovery and link with human disease
J. infect. Dis., 1991, 164 : 235-243

54. GAYE O., BADOU., FAYE O., FALL A., MOLEZ J. F., BAH I. B., DIALLO S.

Morbilité palustre et efficacité thérapeutique des antipaludéens.
 Etude menée dans la région de Dakar.
Trop. Med., 1993, 53, 4, 479 – 485.

55. GAZIN P., BAUDON D., GALAUD B.

Fiabilité de l'examen clinique dans le diagnostic des fièvres palustres en zone d'endémie Ouest africaine.
Trop. Med., 1998, 48 (2) : 123-126

56. GENTILINI M.

Médecine tropicale : Le paludisme
Edition Flammarion, Médecine science 1995, 15 – 1884

57. GENTILINI M.

Médecine tropicale
5ème Edition. Paris : Flammarion Médecine, 1993, 435 – 439.

58. GIRARD P. M. KATLAMA C.H., PIALLOUX G.

VIH – Edition 2001
Doin – Edition, Paris, 2001, 542p.

59. GREENBERG A.E., NSA W., RYDER R.W., MEDI M., NZEZA M., KITADI N., BAANGI M., MALANDA N., DAVACHI F., HASSIG S.E.

Plasmodium Falciparum malaria and perinatally acquired human immunodeficiency virus type 1 infection in Kinshasa, Zaire. A prospective, longitudinal cohort study of 587 children.
N Engl J Med. 1991 Jul 11, 325(2):105-9.

60. HARPER E., MARSELLE L. M., GALLO R. C., WONG – STAAL F. – 1986)

Detection of lymphocytes expressing human T – lymphotropic virus type III in lymph nodes and peripheral blood from infected individuals by in situ hybridization.

Proc. Natl. Sci. USA, 83 : 772 – 776.

61. HEIMLICH H., CHEN P., YAO J.

Malariatherapy for VIH patients

MECH – AGEING, Dev. 1997 fev, 93 (1- 3) : 79 - 85

62. HOFFMAN I.F., JERE C.S., TAYLOR T.E., MUNTHALI P., DYER J.R., WIRIMA J.J., ROGERSON S.J., KUMWENDA N., ERON J.J., FISCUS S.A., CHAKRABORTY H., TAHA T.E., COHEN M.S., MOLYNEUX M.E.

The effect of *Plasmodium falciparum* malaria on HIV-1 RNA blood plasma concentration.

AIDS. 1999 Mar 11,13(4):487-94.

63. ITOUA-NGAPARO A.

Les aspects cliniques du Sida en Afrique

Rev. Prat., 1990, 23 : 2136-2140

64. JACOMET C.

Les tests biologiques

Impact Medecin, Guide SIDA, 1997 : 77 – 91

65. JELINEK T., KILIAN A.H., KABAGAMBE G., VON SONNENBURG F.

Plasmodium falciparum resistance to sulfadoxine/pyrimethamine in Uganda : correlation with polymorphisms in the dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthetase genes.

Am. J. Trop. Med. hyg. 1999, 61 : 463-466.

66. JOACHIM M.

Accès palustre et leur traitement par la quinine en milieu urbain : étude menée au niveau du centre de Santé Gaspard Camara de Dakar.

Thèse, Pharmacie, Dakar 1996, n°82

67. JOHN MARTIN W.

Infections diseases. Chap 33. In : the polymerase chain reaction.

Ed, Birkhauser boston, USA, 1994, 406 – 417

68. KALYESUBULA I., MUSOKE-MUDIDO P., MARUM L., BAGENDA D., ACENG E., NDUGWA C., OLNESS K.

Effects of malaria infection in human immunodeficiency virus type 1-infected Ugandan children.

Pediatr Infect Dis J. 1997 Sep,16(9):876-81.

69. KANE P. Y.

Sensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine et à la quinine dans le district sanitaire de Fatick.

Thèse Pharmacie, Dakar, 1996, n°82

70. KAPITA B. M.

AIDS in africa

Infectional conference on AIDS, Paris, France, 1985.

71. LARIVIEREM M., BAVVAIS B., DEROUINF., TRAORE F.

Le Paludisme

In paludisme médicale

Edition Marketing Ellipse, 1987, 19 – 35

72. LE BRAS J. BASCO L. K., CHARMOT G.

Les bases de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* et ces différents profils

Cahiers Santé, 1993, 3, 293 – 301

73. Le BRAS J., BASCO L. K.

Chimiorésistance des Plasmodiums

In « Paludisme . Ellises/Aupelf Paris 1991 p 146-167 »

74. LEAVER R.J., HAILE Z., WATTERS D.A.

HIV and cerebral malaria.

Trans R Soc Trop Med Hyg. 1990 Mar-Apr,84(2):201.

75. LELIJVELD J., and KORTMANN H.

The eosin colour test of Dill et Glazko : A simple field test to detect chloroquine in urine.

Bull. World. Health. Org., 1970, 42(3), 477 – 479.

76. LELL B., LEHMAN L.G., SCHMIDT-OTT J.R. et Coll.

Malaria chemotherapy trial at a minimal dose of mefloquine/sulfadoxine/pyrimethamine compared with equivalent doses of sulfadoxine/pyrimethamine or mefloquine alone.

Am. J. Trop. Med. Hyg. 1998, 58 : 619-624.

77. LETVIN, N. L., DANIEL, M. D. SEHGAL, P. K. (1985)

Induction of AIDS – like disease in macaque monkeys with t – cell tropic retrovirus STVL – III.

Science, 230 : 71 – 73.

78. LUZZI G.A., PETO T.E.

Adverse effects of antimalarials. An update.

Drug Saf. 1993, 8 : 295-311.

79. MALVY D., DJOSSOU F., RECEVEUR M.C., LE BRAS M.

Plasmodies : traitement, prévention dans Encyclopédie médico-chirurgicale.

Paris : Elsevier, 2000, 8-507-A-25.

- 80. MANN, J. M., BILA, K., COLEBUNDERS, R. L. ET AL. (1986)**
Natural history of human immunodeficiency virus Infection in Zaire.
Lancet, 2 : 707 – 709.
- 81. MARGOLIK, J.B., VOLKMAN, D.J., FOLKS, T.M., FAUCI, A.S. (1987)**
Amplification of HTLV III/LAV infection by antigen – induced activation of T cells and direct suppression by virus of lymphocyte blastogenic responses.
J. Immunol., 138 : 1719 – 1723.
- 82. MARTET G.**
Diagnostic du paludisme
<http://asmt.louis.free.fr/diagnostic.html#idenpar>
- 83. METZGER W., MORDMULLER B., GRANINGER W. et Coll.**
Sulfadoxine/ pyrimethamine or chloroquine/clindamycin treatment of Gabonese school children infected with chloroquine resistant malaria.
J. Antimicrob. Chemother. 1995, **36** : 723-728.
- 84. MICHEL KAZATCHKINE**
Infection à VIH : avant propos.
Révision (1993) du système de classification de l'infection par le VIH pour les adultes et les adolescents.
Rev. Prat, 1995, 45, 681p.
- 85. MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE ET DE L'ACTION SOCIALE
DIRECTION DE L'HYGIENE ET DE LA SANTE PUBLIQUE
REP. SENEGAL – DIVISION DES STATISTIQUES**
Statistiques sanitaires et démographiques, Années 1992 – 1993.
Dakar, Janvier 1995. 139p

**86. MOORE J.M., AYISI J., NAHLEN B.L., MISORE A., LAL A.A.,
UDHAYAKUMAR V.**

Immunity to placental malaria. II. Placental antigen-specific cytokine responses are impaired in human immunodeficiency virus-infected women. *J Infect Dis.* 2000 Sep,182(3):960-4.

87. MOSS A.

Surrogate markers for survival in patients with AIDS and AIDS-related complex treated with Zidovudine.
VI Intl. Conf. AIDS, San Francisco, 1990.

88. MULLER O., MOSER R.

The clinical and parasitological presentation of *Plasmodium falciparum* malaria in Uganda is unaffected by HIV-1 infection.
Trans R Soc Trop Med Hyg. 1990 May-Jun,84(3):336-8.

89. N'WANYANKU C. O.

Malaria and HIV infection among rurale employees of a sugar estate in Malawi.
Transaction of the Society of Tropical Medecine and Hygiene, 1997, 91 : 567-569

90. NA-BANGCHANG K., TIPPANANGKOSOL P., UBALEE R. et Coll.

Comparative clinical trial of four regimens of dihydroartemisinin-mefloquine in multidrug-resistant *falciparum* malaria.
Trop. Med. Int. Health 1999, 4 : 602-610.

91. NDIR A.

Les IST/SIDA et la santé de la reproduction chez les hommes en milieu ouvriers à Dakar
(Etude de l'information par la méthode des groupes focaux de discussion)
Thèse Médecine, Dakar, 2001, n°19

- 92. NGUYEN-DINH P., GREENBERG A.E., MANN J.M., KABOTE N., FRANCIS H., COLEBUNDERS R.L., HUONG A.Y., QUINN T.C., DAVACHI F., LYAMBA B., et al.**

Absence of association between *Plasmodium falciparum* malaria and human immunodeficiency virus infection in children in Kinshasa, Zaire.

Bull World Health Organ. 1987,65(5):607-13.

- 93. NICHOLSON J. K. A., JONES B. M., ECHENBERG D. F.**

Phenotypic distribution of T cells of patient who have subsequently developed AIDS.

Clin. Immunol. and Immunopathol. 1987, 43 : 82-7.

- 94. NIYONGABO T., DELORON P., AUBRY P., NDARUGIRIRE F., MANIRAKIZA F., MUHIRWA G., NDAYIRAGIJE A., BRELIVET J.C.**

Prognostic indicators in adult cerebral malaria: a study in Burundi, an area of high prevalence of HIV infection.

Acta Trop. 1994 Apr,56(4):299-305.

- 95. NWANYANWU O.C., ZIBA C., KAZEMBE P. et Coll.**

Efficacy of sulphadoxine/ pyrimethamine for *Plasmodium falciparum* malaria in Malawian children under five years of age.

Trop. Med. Int. Health 1996, 1 : 231-235.

- 96. NZILAMBI N., DECOCK K. M., FORTHAL D. N. ET AL. (1988)**

Stability of HIV infection over a 10 – year period in rural Zaire. The prevalence of infection with human immunodeficiency virus.

New Eng. J. Med., 318 : 276 - 279.

- 97. NZILAMBI N., RYDER R. W., BEHETS F. ET AL (1987)**

Perinatal HIV transmission in two Africa hospitals.

Abstract, Third International Conference on AIDS, Washington, D. C.

98. OMS

Chimiothérapie du paludisme

Série monographique n°27,OMS 2^e édition, Genève 1984, 274p

99. OMS

Guide pour la prise en charge clinique de l'infection à VIH chez l'adulte

WHO/GPA/IDS/91.6

100. ONUSIDA

Le point sur l'épidémie mondiale de VIH/SIDA, Décembre 2001.

101. ONUSIDA et OMS

Le point sur l'épidémie mondiale de VIH/SIDA, Décembre 1999.

102. PARISE M. E., AYISI J. G., NAHLEN B. L. et Coll.

Efficacy of sulphadoxine-pyrimethamine for prevention of placental malaria in an area of Kenya with a high prevalence of malaria and human immunodeficiency virus infection.

Am. J. Trop. Med. Hyg. 1998, 59 : 813-822.

103. PAUGAM A., BOUREE P.

Diagnostic biologique du paludisme : techniques classiques et nouvelles

Tech. Biol., 1994, 117 – (B) : 62

104. PENE P.

30 ans de paludisme en Afrique noire francophone

Médecine d'Afrique noire, 1999

105. PICOT S.

Méthodes d'étude de la chimiorésistance de *P. falciparum* aux quinoléines

Médecine tropicale, 2001, n° 61, 1, p15-29

106. PIOT P. (1987)

AIDS in Africa : a public health priority.

J. Virol. Meth., 17 : 1 – 10.

107. PRISQUE GERMAINE CHERITA SAGBO EPOUSE LAWSON

Paludisme et pathologies associées.

Thèse pharmacie 1999, Dakar n°56

108. PROT P., LAGS M.

Genetical ulcers, other sexually transmitted diseases and the sexual transmission of HIV

British Medical Journal, 1988, 298, 623 – 624

109. QUINN T.C., MANN J.M., CURRAN J.W., PIOT P. (1986)

AIDS in Africa : an epidemiologic paradigm.

Science, 234 : 955 – 963.

110. RAVIGLIONE M.C., DINAN W.A., PABLOS-MENDEZ A. et Coll.

Fatal toxic epidermal necrolysis during prophylaxis with pyrimethamine and sulfadoxine in a human immunodeficiency virus-infected person.

Arch. Intern. Med. 1988, 148 : 2683-2685.

111. REINHERZ E.L., KUNG P.C.

Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody.

Proc. Natl. Acad. Sci. 1979, 76 : 4061-6.

112. RETROVIRUS et VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH ou HIV)

<http://perso.club-internet.fr/guill1/hiv.htm>

113. RINGWALD P., BICKII J., BASCO L.K.

Randomised trial of pyronaridine versus chloroquine for acute uncomplicated *falciparum* malaria in Africa.

Lancet 1996, **347** : 24-28.

114. RINGWALD P., BICKII J., SAME-EKOBO A., BASCO L.K.

Pyronaridine for treatment of *Plasmodium ovale* and *Plasmodium malariae* infections.

Antimicrob. Agents Chemother. 1997, **41** : 2317-2319.

115. ROCHE J., BENITO A., AYECABA S. et Coll.

Resistance of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs in Equatorial Guinea. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1993, **87** : 443-449.

116. ROGIER C.

Méthodes d'étude et de mécanismes de la résistance de *Plasmodium falciparum*

Forum médical n° 1 p. 3-5

117. ROMBO L., ANGEL V.H., FRIMAN G. et Coll.

Comparative tolerability and kinetics during long-term intake of Lariam and Fansidar for malaria prophylaxis in nonimmune volunteers.

Trop. Med. Parasitol. 1993, **44** : 254-256.

118. ROZENBAUM W.

Classification et histoire naturelle dans Guide SIDA. Sous la direction du Professeur ROZENBAUM W.

Group Impact Medecin, 1997, 42 – 43

119. SALAKO L. A., ADIO R. A., WALKER O. et Coll.

Mefloquine-sulphadoxine-pyrimethamine ((Fansimef, Roche) in the prophylaxis of *Plasmodium falciparum* malaria : a double-blind, comparative, placebo-controlled study.

Ann. Trop. Med. Parasitol. 1992, 86 : 575-581.

120. SELIGMAN M., PINCHING A. J., ROSEN F. S. et al. (1987)

Immunology of Human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome.

Ann. Intern. Med., 107 : 234 – 242.

121. SIDIBE M. K.

Evaluation de la morbidité palustre et de l'efficacité de la chloroquine dans le traitement des accès simples à *Plasmodium falciparum* – étude menée au niveau du centre de Santé DOMINIQUE de Pikine

Thèse pharmacie 2001, Dakar n°91

122. SIMMOYA OO., MWENDAPOLE R. M., SIZIYA S., FLEMING A. F.

Relation between malaria and HIV seropositivity in Ndola, Zambia.

BMJ. 1988 Jul 2,297 (6640) : 30 – 1

123. SIMOOYA OO, MWENDAPOLE R.M., SIZIYA S., FLEMING A.F.

Relation between falciparum malaria and HIV seropositivity in Ndola, Zambia.

BMJ. 1988 Jul 2,297(6640):30-1.

**124. STEKETEE R.W., WIRIMA J.J., BLOLAND P.B., CHILIMA B.,
MERMIN J.H., CHITSULO L., BREMAN J.G.**

Impairment of a pregnant woman's acquired ability to limit *Plasmodium falciparum* by infection with human immunodeficiency virus type-1.

Am J Trop Med Hyg. 1996,55(1 Suppl):42-9.

125. STEKETEE R.W., WIRIMA J.J., SLUTSKER L., BREMAN J.G., HEYMANN D.L.

Comparability of treatment groups and risk factors for parasitemia at the first antenatal clinic visit in a study of malaria treatment and prevention in pregnancy in rural Malawi.

Am J Trop Med Hyg. 1996,55(1 Suppl):17-23.

126. TAYLOR J. M., FAHEY J. L., DETELS R. et GIORGI J.V.

CD4 percentage, CD4 number, and CD4/CD8 ratio in HIV infection : which to choose and how to use.

J. AIDS, 1989, 2 : 114-24.

127. TIENDREOGO G.

Enquête séro – épidémiologique sur l’infection à VIH/SIDA en milieu carcéral à Dakar (Sénégal)

Thèse médecine 2001, Dakar n°07

128. TRAGER J. F, LE FEBRE – SANTE. LE GROS E., DRUILHE P., ROGIER C. BOUGANALI H. SALEM G.

Malaria morbidity among children exposed to low seasonal transmission in Dakar – Sénégal and its implications for malariq in tropical African.

Am. J. Trop Méd. Hyg. 1993 une, 48 (6) 748 – 756

129. WABWIRE-MANGEN F., SHIFF C.J., VLAHOV D., KLINE R., SERWADDA D., SEWANKAMBO N.K., MUGERWA R.D., QUINN T.C.

Immunological effects of HIV-1 infection on the humoral response to malaria in an African population.

Am J Trop Med Hyg. 1989 Nov,41(5):504-11.

130. WERY M.

Diagnostic biologique

In paludisme Edition Marketing Ellipse/AUPELF,1991,111 – 127

- 131. WHITWORTH J., MORGAN D., QUIGLEY M., SMITH A., MAYANJA B., EOTU H., OMODING N., OKONGO M., MALAMBA S., OJWIYA A.**

Effect of HIV-1 and increasing immunosuppression on malaria parasitaemia and clinical episodes in adults in rural Uganda: a cohort study.

Lancet. 2000 Sep 23,356(9235):1051-6.

- 132. XIAO L., OWEN S. M., RUDOLPH DL., LAL R. B., LAL A. A.**

Plasmodium falciparum antigen-induced human immunodeficiency virus type 1 replication is mediated through induction of tumor necrosis factor- α .

J Infect Dis. 1998 Feb,177(2):437-45.