

Les lauréats du prix de thèse pour l'année 2004

SCIENCES

**ÉCOLOGIE ET MODÈLE DE TRANSMISSION DE *MYCOBACTERIUM ULCERANS*,
AGENT ÉTIOLOGIQUE DE L'ULCÈRE DE BURULI**

L. MARSOLLIER

*Thèse de doctorat Chimie et Microbiologie de l'eau
Ecole doctorale d'Angers, France
Présentée et soutenue publiquement le 17 mars 2003*

L'ulcère de Buruli est une maladie humaine émergente, observée dans les régions tropicales humides, due à *Mycobacterium ulcerans*. Le développement de *M. ulcerans* chez les sujets humains peut se manifester par des ulcérations cutanées invalidantes. Elle est devenue la troisième mycobactériose, après la tuberculose et la lèpre. Sans que jamais *M. ulcerans* n'ait été encore isolé de l'environnement, nous avons considéré comme raisonnable l'hypothèse que le milieu hydro-tellurique soit le réservoir de cette espèce de *Mycobacterium* et avons donc mis au point des modèles expérimentaux pour en éprouver le caractère valide ou pas. Nous avons d'abord démontré le rôle des punaises d'eau (Naucoridae) comme hôte et vecteur de *M. ulcerans*. En effet, suite à l'ingestion de proies expérimentalement infectées par *M. ulcerans*, ces insectes prédateurs sont capables de transmettre le bacille à des souris lors de piqûres. Ces punaises constituent, de plus, une niche pour *M. ulcerans* qui semble être la seule mycobactérie à pouvoir se multiplier dans leurs glandes salivaires. D'autre part, il a été démontré que la croissance *in vitro* de *M. ulcerans* est facilitée par des extraits d'algues aquatiques sur lesquels il forme des biofilms, ce qui suggère que des relations étroites existent entre *M. ulcerans* et les végétaux. Or les Naucoridae sont exclusivement des carnivores dont les proies phytophages pourraient être infectées et représenter un maillon intermédiaire. Nous avons mis en évidence que des mollusques aquatiques, qui se nourrissent de végétaux aquatiques recouverts d'un biofilm à *M. ulcerans*, étaient l'objet d'une contamination transitoire qui se maintenait pendant au moins 60 jours. Ces mollusques contaminés, dévorés par les punaises d'eau, peuvent transmettre le bacille qui va se multiplier dans les glandes salivaires, ce qui peut assurer la transmission de *M. ulcerans* lors d'une piqûre. L'ensemble de ces observations expérimentales sur la transmission de *M. ulcerans* des algues à l'homme a été confirmé dans des zones d'endémies de la Côte d'Ivoire et au Bénin ■

UNIVERSITE FRANÇAISE

**ÉTUDE DE LA CHIMIOSENSIBILITÉ ET DU POLYMORPHISME GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS
DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* À DAKAR AU COURS DE LA SAISON DE TRANSMISSION 2002**

J. BORDES

*Thèse de doctorat médecine générale
Université Victor Segalen Bordeaux, France
Présentée et soutenue publiquement le 4 décembre 2003*

Cette étude a été réalisée à l'Hôpital Principal de Dakar pendant la saison de transmission 2002. Au total 48 patients ont été recrutés, incluant des accès simples et graves de paludisme. Les objectifs étaient d'évaluer le niveau de sensibilité des isolats de *P. falciparum* antipaludiques par des tests de chimiosensibilité *in vitro* et par des techniques de biologie moléculaire, et d'évaluer le polymorphisme génétique des populations parasitaires. La sensibilité des isolats à la chloroquine, à la quinine, au cycloguanil, à la pyriméthamine, à l'atovaquone, à la méfloquine et à l'halofantrine a été testée *in vitro*. Nous avons aussi réalisé un génotypage de résistance des gènes dhfr, dhps et pfcr. La diversité génétique des populations plasmodiales a été analysée par l'étude des familles alléliques des gènes msp1 et msp2. Au total, 70% des souches testées *in vitro* ont pu être exploitées. 50% des isolats analysés étaient résistants à la chloroquine et au cycloguanil, 24% à l'atovaquone, et 4% à la quinine. Nous avons observé une corrélation entre le niveau de résistance *in vitro* et la présence de mutations sur les gènes dhfr et pfcr. 18% des souches présentaient une mutation en relation avec la résistance à la sulfadoxine. L'étude du niveau de complexité des infections à *Plasmodium falciparum* montre que 70% des patients inclus présentaient un nombre de populations parasitaires différentes supérieur à deux. Ces résultats confirment le niveau élevé de résistance à la chloroquine et au cycloguanil à Dakar, et le lien entre la résistance *in vitro* à la chloroquine et les mutations du gène pfcr. Alors que le niveau de transmission à Dakar est faible, la diversité génétique des populations plasmodiales que nous avons retrouvée est probablement en rapport avec l'importation de souches de zones rurales du Sénégal, de plus haute endémicité palustre ■

CONTRIBUTION DES ESPÈCES VECTRICES À LA TRANSMISSION DU PALUDISME ET LE DIAGNOSTIC DU GÈNE DE RÉSISTANCE KDR CHEZ LES FORMES CHROMOSOMIQUES D'*AN. GAMBIAE* S.S. À DONÉGUÉBOUGOU (SOUS PRÉFECTURE DE KATI), MALI

A. ADAMOU

Thèse de doctorat en Pharmacie

Université de Bamako, Mali

Présentée et soutenue publiquement le 17 novembre 2003

Une étude longitudinale de la transmission du paludisme et le diagnostic du gène de résistance « kdr » a été réalisée à Donéguébougou au Mali de juin à décembre 2002. Localité d'endémie palustre, ce village est situé à 30 km au Nord-Est de Bamako, en zone de Savane soudanienne. L'objectif général de notre étude était d'évaluer la contribution des formes chromosomiques d'*Anopheles gambiae* s.l. dans la transmission du paludisme et la dissémination du gène kdr à Donéguébougou. Il s'agissait d'un passage de 12 jours par mois. A chaque passage, on a prospecté 180 cases (choisies au hasard). Les femelles *An. gambiae* s.l. capturées ont été conservées dans une solution de Carnoy (1 part acide + 3 parts EtOH). Une fois au laboratoire, les tête-thorax des moustiques femelles ont été traités à l'ELISA pour la détermination du taux d'infection. Les broyats des semi-gravides ont été traités à la PCR pour le diagnostic du gène kdr. Quant aux ovaires des semi-gravides, ils ont été lus en cytogénétique pour l'identification des espèces et le caryotypage des formes chromosomiques. La faune vectorielle du paludisme est composée d'*An. gambiae* s.l. (98,63%) et d'*An. funestus* (1,17%). Les fréquences des membres du complexe *An. gambiae* s.l., ont été de 73,7% (n = 824), pour *An. gambiae* s.s. et de 26,3% (n = 294) pour *An. arabiensis*. Les fréquences relatives moyennes des trois formes chromosomiques d'*An. gambiae* s.s. sont : Bamako (13,3%), Savane (24%) et Mopti (58,6%). Le taux moyen d'infection a été de 8,02% (n = 8882) pour *An. gambiae* s.l. Le pic du taux d'inoculation entomologique (TIE) d'*An. gambiae* s.s. a été observé en novembre (5,42 piqûres infectantes/homme/mois). Le taux d'inoculation moyen cumulé des deux espèces (*An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis*), pour la période d'étude, a été de 3,51 piqûres infectantes /homme/mois. En se référant aux fréquences relatives, il a été observé une prédominance de la forme Mopti durant toute la période d'étude. Les caryotypes dominants ont été de type bc/bc suivis de bc/+ et bc/u. Ces observations confirment l'adaptation de la forme Mopti aux conditions éco-climatiques du site d'étude en dépit des variations climatiques. Ceci expliquerait sa forte contribution à la transmission du paludisme (TIE = 1,34 pq /h/m ; 47,85%TIE total). La fréquence du gène kdr a été de 1,46 % (12/824) chez *An. gambiae* s.s. La fréquence la plus élevée a été observée en août 4,84% (9/186), contre 2,11% (3/142) en octobre. Tous les cas de résistance observés ont été de type hétérozygote (RS). La fréquence du gène chez la forme Bamako a été de 2,73% (3/110) contre 1,24% (6/483) pour les formes Mopti et 1,52% (3/198) pour Savane. Ces différentes fréquences, bien que faibles, indiquent une diffusion progressive du gène de résistance kdr au sein de la population d'*An. gambiae* s.s. Nous suggérons la réalisation d'une étude à une grande échelle en vue de confirmer ces observations ■

LES AUTRES THÈSES NOMINÉES

Sciences

ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE DE LA TUBERCULOSE AU CAMEROUN

SARA IRÈNE NGO NIOBE-EYANGOH

La tuberculose reste au début de ce 3^e millénaire l'un des principaux défis de santé publique mondiale, malgré la disponibilité d'un traitement bien codifié, qui a fait la preuve de son efficacité lorsqu'il était correctement appliqué dans le cadre des programmes de santé publique. Un tiers de la population mondiale est infectée par *M. tuberculosis*. On compte environ 9 millions de nouveaux cas par an dans le monde entier et 2 millions de décès. 95% des cas de tuberculose (TB) et 98% des décès se produisent dans les pays à faible revenu où 75% des cas surviennent dans le groupe d'âge économiquement productif (15 à 50 ans). La tuberculose est un des problèmes majeurs de santé publique au Cameroun. Il est très difficile de chiffrer avec précision le problème posé par la tuberculose du fait de la défaillance du système de déclaration. Cependant les cas notifiés traduisent une aggravation du problème au fil des ans. L'incidence annuelle de la tuberculose au Cameroun était estimée en 1990 à 100 cas pour 100.000 habitants, en 2000 l'OMS estimait cette incidence à 300 cas pour 100 000 habitants. Cette situation alarmante résulte de la conjonction de plusieurs facteurs : la dégradation des conditions socio-économiques, la pandémie du SIDA qui rend la population infectée par le VIH très sensible aux infections mycobactériennes, ainsi que l'inadéquation des mesures prophylactiques et thérapeutiques. Plusieurs stratégies peuvent être envisagées pour réduire l'incidence de la tuberculose. Si les actions de santé publique demeurent prioritaires, des recherches appliquées ont également leur place. Des recherches de type opérationnel doivent être menées conjointement à des recherches en biologie, parmi lesquelles on peut citer l'étude de résistance aux antibiotiques et l'étude génétique des souches. Le typage moléculaire de *M. tuberculosis* avec des méthodes fiables et discriminantes prend aujourd'hui sa place dans la lutte contre la tuberculose. Les méthodes d'épidémiologie moléculaire sont devenues les compléments indispensables à la menée d'enquêtes épidémiologiques classiques. Elles permettent

de recueillir des informations de nature différente sur les caractéristiques épidémiques et sur la diversité génétique dans différentes populations. Au Cameroun aucune étude d'épidémiologie de la tuberculose n'a été entreprise pour la caractérisation des souches de bacilles de la tuberculose par méthodes moléculaires. Dans le cadre de cette thèse, nous avons analysé la biodiversité des isolats de bacilles tuberculeux circulant au Cameroun afin de mieux comprendre leur dynamique de transmission. Dans la première partie de ce travail est décrite une enquête prospective sur les profils de résistance aux antituberculeux dans la région Ouest du Cameroun. Au cours de cette enquête tous les malades âgés de 15 ans et plus, atteints de tuberculose pulmonaire à microscopie positive ont été inclus. Des fiches d'enquêtes ont permis d'obtenir des renseignements sur l'identité des patients, les antécédents de tuberculose et l'épisode actuel de la maladie. 566 souches du complexe *M. tuberculosis* ont été isolées, identifiées par la méthode classique. 89,6% des identifications correspondaient à *M. tuberculosis* et 10,4% à *M. africanum*. Alors que 56% des souches isolées en 1970 étaient identifiées comme *M. africanum*, notre étude ne retrouve que 10% de *M. africanum*, ce qui témoigne d'une dynamique active de circulation des souches de bacilles tuberculeux. Toutes les souches isolées ont été testées pour la sensibilité aux antituberculeux par la méthode indirecte de proportions. La multirésistance secondaire est significativement plus importante que la multirésistance primaire (13,2% vs 1,4%). Ce taux élevé de résistance souligne la nécessité d'améliorer le programme de lutte. L'ensemble des résultats de profils de résistance a permis de proposer un régime thérapeutique adapté. Etant donné que la résistance initiale affectait le plus souvent un seul médicament à la fois et plus fréquemment la streptomycine, il a été recommandé d'utiliser des régimes thérapeutiques associant 4 antituberculeux pour les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire (Rifampicine, Isoniazide, Ethambutol, Pyrazinamide), en remplaçant la streptomycine par l'éthambutol pendant la phase initiale du traitement. Dans la deuxième partie de ce travail nous avons analysé la biodiversité génétique de 455 souches du complexe *M. tuberculosis* isolées lors de l'enquête précédente. Les souches ont été soumises au typage moléculaire par "spoligotyping" ciblé sur la région DR (*Direct Repeat*). Le spoligotyping est une méthode qui assure, en une seule étape, l'identification des bacilles de la tuberculose et le typage génomique. C'est une méthode rapide, simple dont la mise en place a été aisée dans notre pays. L'identification moléculaire a été confirmée par l'analyse des séquences portant sur les gènes *pncA*, *OxyR* et par l'amplification de 3 régions de différence (RD4, RD9 et RD10). La majorité des souches a été identifiée comme *M. tuberculosis*(413) et 10% comme *M. africanum* (41), montrant dans l'ensemble une concordance avec l'identification par la méthode classique. Le spoligotyping des 41 souches de *M. africanum* a montré 23 profils différents. Le spoligotyping des 413 souches de *M. tuberculosis* a montré 72 profils différents. Soit au total 95 profils distincts qui révélaient une grande diversité génétique. Cependant, 140 souches *M. tuberculosis* étaient regroupées en une grappe unique suggérant ainsi un groupe génétique prédominant, caractérisé par l'absence des spacers 23, 24 et 25. Le typage secondaire de ces souches, pour confirmer la relation génétique suggérée par le spoligotyping a été réalisée par la Ligation Mediated-PCR (LM-PCR) ciblée sur IS6110, une autre méthode de typage rapide et de mise en place facile dans notre pays. L'analyse par LM-PCR de ces 140 souches et de 53 autres souches avec des spoligotypes similaires auxquels manquaient également les spacers 23, 24 et 25 et un ou plusieurs autres spacers, a confirmé que toutes ces souches étaient génétiquement proches. Ce groupe de 193 souches a été désigné "famille Cameroun", représentant 42% des souches de cette étude. Aucune différence significative n'a été observée lorsque nous avons comparé les données des patients (âge, sexe, statut VIH, profil de résistance des bacilles aux antituberculeux) infectés par *M. africanum*, *M. tuberculosis*, ou *M. tuberculosis* de la "famille Cameroun"; aucune différence également, quant à la répartition géographique des souches de "la famille Cameroun". Ces résultats ont confirmé une dynamique active de circulation des souches de bacilles tuberculeux, par l'expansion récente d'une famille clonale "famille Cameroun" au détriment de *M. africanum*. Cependant la transmission de *M. africanum* reste active dans la population et n'est pas seulement le résultat des réactivations. La comparaison de nos résultats avec une base de données internationale montre la spécificité géographique de cette famille. 44 nouveaux profils ont été décrits pour la première fois dans notre étude. Dans la troisième partie, nous avons affiné la caractérisation moléculaire des "souches de la famille Cameroun". Nous avons d'abord déterminé la position phylogénétique au sein du complexe *M. tuberculosis*, par analyse de la région Tbd1 et des séquences des gènes *KatG* et *GyrA*. Nous avons montré que les souches de la "famille Cameroun" appartiennent au groupe génétique majeur 2 et au groupe *M. tuberculosis* "moderne". Les souches appartenant à ce groupe sont décrites comme étant des souches épidémiques. Nous avons ensuite évalué le degré d'homogénéité de la "famille Cameroun", en étudiant le polymorphisme de l'IS6110 en particulier dans la région DR, et le polymorphisme des régions intercistroniques (MIRU-VNTR). L'analyse a confirmé que ces souches sont génétiquement très proches. Le nombre de répétition de ces souches est identique pour 8 loci sur les 12 loci MIRU-VNTR analysés. Les souches présentent un profil proche par RFLP-IS6110 et en moyenne 13 copies de IS6110 dont 7 communes, avec absence de copie au site préférentiel d'intégration dans la région DR. Nous avons enfin défini la cartographie des principaux sites d'insertion de l'élément IS6110 dans différentes régions chromosomiques. Les produits des gènes interrompus par l'insertion d'IS6110 sont impliqués dans différents processus biologiques importants. L'analyse combinée des différentes méthodes de typage donne des résultats obtenus pour la première fois dans cette étude. A savoir que le typage par les MIRU-VNTR peuvent donner des profils moins polymorphes que le spoligotyping et dans de rares cas des souches ayant un profil identique en RFLP-IS6110 peuvent avoir des spoligotypes différents de plusieurs spacers contigus. Cette analyse combinée confirme ainsi une récente expansion de cette famille, et souligne la nécessité d'adapter les conditions d'interprétation des méthodes de typage moléculaire aux populations de souches étudiées selon le contexte géographique. Au terme des travaux présentés dans le cadre de cette thèse, nous avons établi la première base de données d'empreintes génomiques des bacilles de la tuberculose isolées chez l'homme au Cameroun. Nous avons décrit et caractérisé une famille génétique des bacilles de la tuberculose prédominante et spécifique de la région, responsable de plus de 40% des cas de tuberculose pulmonaire. Cette "famille Cameroun" est en expansion au détriment de *M. africanum* comme le montre la comparaison avec les données des années 70. Différentes perspectives s'ouvrent au terme de ce travail. L'une d'elles est l'étude génomique comparative des régions polymorphes des bacilles de la "famille Cameroun" afin de déterminer la variabilité génétique en relation avec les principales différences épidémiologiques. Nous pouvons également envisager l'analyse de l'expression des gènes interrompus par l'élément d'insertion IS6110 ■

ÉTUDE DE LA DYSRHYTHMIE CIRCADIENTE DE L'ALTERNANCE VEILLE SOMMEIL, SUIVI CLINIQUE ET VALIDATION THÉRAPEUTIQUE DANS UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL DE TRYPANOSOMOSE AFRICAINE

DARSAUD

La trypanosomose humaine africaine (THA), due à un protozoaire flagellé de type *Trypanosoma brucei* transmis par piqûre de glosine, est une maladie grave qui revêt un caractère d'urgence en Afrique puisqu'elle y est en nette recrudescence et que les médications disponibles ont peu évolué et sont donc rares et dangereuses. La THA comporte deux phases successives difficiles à distinguer chez l'homme ; la première est celle du développement du parasite dans le système lymphatico-sanguin, elle est suivie d'une phase d'atteinte neurologique durant laquelle le trypanosome envahit le système nerveux central (SNC). Cette seconde phase, dite méningo-encéphalitique, est caractérisée par l'émergence de troubles neurologiques au premier rang desquels une perturbation de la rythmicité circadienne du cycle veille-sommeil. Le diagnostic de cette phase est actuellement tardif et non spécifique en raison de l'absence de critères clinico-biologiques sûrs. Le premier objectif de ce travail a été de développer une méthode non invasive visant à identifier le passage en phase méningo-encéphalitique. Dans un premier temps, nous avons conduit une étude médico-physiologique qui nous a permis de mettre en évidence des paramètres physiologiques déviants pouvant constituer des critères sérieux de pénétration du trypanosome dans le SNC. Une diminution de poids consécutive d'une diminution de prise alimentaire, une diminution de distance totale parcourue et du comportement d'exploration ainsi qu'une attitude de prostration à un test d'*open-field* deux semaines après infection constituent des index en faveur de l'entrée en phase de polarisation nerveuse. Une étude histologique complémentaire révélant la présence de parasites treize jours après infection nous a permis de renforcer cette hypothèse. L'administration de la combinaison suramine-mégazol, traitement efficace de la THA en phase méningo-encéphalitique, nous a permis d'affiner ces conclusions. En effet, seuls les rats traités avec la combinaison thérapeutique au moment de la diminution de poids ont survécu. En outre, la diminution de poids sous traitement combiné a été réduite par rapport à l'utilisation du mégazol seul, ce qui renforce le caractère bénéfique de la combinaison thérapeutique. Notre travail s'est alors focalisé sur l'étude des perturbations circadiennes de l'alternance veille-sommeil. Une étude qualitative fondée sur la structure interne du sommeil et la morphologie des ondes constituant les différents stades de vigilance a été complétée d'une approche quantitative des tracés électro-physiologiques recueillis sur 10 animaux. Une perturbation de la rythmicité circadienne de la veille et du sommeil été objectivée, accompagnée d'une déstructuration de l'architecture interne du sommeil (augmentation du nombre d'épisodes de sommeil et diminution concomitante de leur durée moyenne) ainsi qu'un appauvrissement de la qualité du sommeil (progression de la proportion de sommeil lent léger au profit du sommeil lent profond). Cette altération de la structure interne du sommeil s'est également traduite par l'augmentation des changements de stades de vigilance et l'apparition de transitions anormales, en particulier des endormissements directs en sommeil paradoxal (*sleep onset rapid eye movements episodes, SOREMPs*). Des ondes lentes hypersynchrones anormales sont apparues en fin de vie au cours des phases de sommeil lent. L'étude quantitative a révélé une diminution de la densité de puissance spectrale de la bande delta en sommeil lent. Répliquant la majeure partie des troubles observés en phase méningo-encéphalitique de la THA, notre modèle expérimental constitue donc un outil d'étude pour d'éventuelles nouvelles thérapeutiques. En outre, il ouvre des perspectives d'études approfondies de la physiopathologie de l'atteinte nerveuse de la trypanosomose, encore mal connue ■

IMPLICATION DE LA PROTÉINE KINASE C DE LEISHMANIA DANS LE PHÉNOMÈNE D'INVASION CIBLE POTENTIELLE DES DERIVES IMIDAZOLIDIN-2-ONE

N.D. ALVAREZ RUEDA

Les Leishmanioses sont des zoonoses dues au parasitisme de l'homme et de divers mammifères domestiques par un protozoaire flagellé, kinétoplastidé, appartenant au genre *Leishmania*. Ces parasites sont transmis aux vertébrés par des insectes de la famille des phlébotomes. La maladie est largement distribuée dans le monde affectant les zones intertropicales et tempérées de 88 pays, avec une prévalence de 12 millions de personnes. Les leishmanioses sont par ailleurs des maladies opportunistes des patients sidéens. Le traitement de référence est constitué par les sels d'antimoine (Glucantime) et de l'amphotéricine B. Cependant, l'utilisation de ces molécules est limitée par leur toxicité et par l'apparition de souches résistantes. La recherche de nouveaux médicaments constitue donc un axe privilégié de recherche. Cet objectif passe par une meilleure connaissance de la biologie du parasite en particulier des mécanismes intimes du processus d'invasion de la cellule hôte et de survie du parasite. Récemment identifiée chez des protozoaires parasites, la protéine kinase C (PKC) a été impliquée, à l'instar d'autres modèles cellulaires, dans les processus de prolifération mais également dans les mécanismes d'invasion des parasites intracellulaires. Ces éléments indiquent le rôle potentiel de la PKC comme cible thérapeutique. En ce qui concerne les leishmanies, aucune donnée ne sont disponibles à ce jour. 1. Caractérisation de la PKC de *Leishmania* et implication dans le processus d'invasion : dans ce travail, nous avons mis en évidence une activité PKC dépendante du Ca^{2+} et de la phosphatidylinositol chez les promastigotes de *Leishmania (L.) mexicana*, *L. (L.) major* et *L. (L.) infantum*. Le pré-traitement des parasites avec 50 nM d'un inhibiteur sélectif de la PKC, le RO-32-0432, réduit l'activité enzymatique de 72 %. Un anticorps monoclonal (2B9) dirigé contre la PKC β permet de détecter par immunoprécipitation dans les fractions subcellulaires une bande de 56 kDa correspondant à la sous-unité catalytique de l'enzyme. L'expression de cette enzyme dépend de la phase de croissance du parasite puisque une augmentation très significative n'est observée qu'à partir du 6ème jour de culture. Cette expression dépend également de l'interaction hôte-parasite car le contact de parasites au 4ème jour de culture avec les macrophages murins entraîne une augmentation des niveaux d'expression de la PKC. Ces résultats sont corrélés avec le maximum d'infectivité des promastigotes (4^e et 6^e jours de culture). Par ailleurs, le pré-traitement des leishmanies avant invasion avec 100 nM de l'inhibiteur RO-32-0432 réduit de 58 % le nombre de macrophages

parasités et de 72 % la charge parasitaire, ce qui suggère la participation de la PKC dans le processus d'invasion. Dans un second temps, l'activité antileishmanienne *in vitro* des dérivés imidazolidin-2-one précédemment rapportés comme des inhibiteurs de la phospholipase A2 de *Leishmania*, a été évaluée. 2. Activité antileishmanienne de dérivés imidazolidin-2-one et cytotoxicité : L'activité anti-leishmanienne de 18 composés a été évaluée sur le stade promastigote de 3 espèces de leishmanies, *L.(L). mexicana* et *L.(L). infantum*. Trois de ces molécules (18, 23 et 25) se sont avérées particulièrement actives (CI50 de 11,4 ; 22,3 et 12,8 mM respectivement), sans présenter de toxicité sur des fibroblastes humains (MRC5). Par ailleurs, les dérivés 18 et 25 maintiennent leurs activités (11,6 et 7,2 mM) dans un modèle de macrophages Balb/c infectés par les leishmanies. Enfin, l'activité *in vivo* du composé 25, a été évaluée dans un modèle de leishmaniose viscérale à *L.(L). infantum* chez la souris Balb/c. Après infection, les souris ont été traitées par voie intra-péritonéale une fois par jour à raison de 10 mg/kg durant 10 jours. Le composé 25 réduit la charge parasitaire du foie de 25 % et de la rate de 44 %. Dans les mêmes conditions, le Glucantime, permet une réduction de 35 % et de 70 % respectivement. L'ensemble de ces résultats montre que la PKC est présente chez les promastigotes de *Leishmania* spp. A l'instar d'autres protozoaires (Trypanosomatidae), cette PKC est sans aucun doute impliquée dans la prolifération du parasite. L'étude démontre par ailleurs que cette enzyme joue un rôle dans le phénomène d'invasion de la cellule hôte par le parasite. Elle pourrait intervenir par phosphorylation des protéines clés dans l'adhérence et la survie. A ce titre, il a été récemment décrit par notre équipe [10] que la phospholipase A2 parasitaire (substrat de la PKC) constitue un facteur d'invasion. En conséquence, la PKC de *Leishmania* pourrait être une cible thérapeutique pour la nouvelle famille des dérivés imidazolidin-2-ones. Des travaux ultérieurs viseront à localiser la PKC au niveau cellulaire durant l'interaction hôte-parasite par différentes techniques d'immunomarquage. La pharmacomodulation sur les dérivés imidazolidin-2-ones sera aussi envisagée. ■

Universités françaises

TRAITEMENT COURT DE LA MÉNINGITE À MÉNINGOCOQUES. ESSAI CLINIQUE D'ÉQUIVALENCE COMPARANT LE CHLORAMPHÉNICOL EN SUSPENSION HUILEUSE À LA CEFTRIAXONE EN 1 OU 2 INJECTIONS.

T. BOREL

En Afrique sub-saharienne, la méningite à méningocoques évolue sur un mode épidémique et représente un problème majeur de santé publique. Le traitement habituellement recommandé dans ce contexte est le chloramphénicol en suspension huileuse selon un protocole d'une injection renouvelable une fois. Néanmoins, cette molécule, facile d'utilisation et dont le coût est limité, risque prochainement de disparaître du marché. La ceftriaxone, a vu son prix considérablement baisser depuis la chute de son brevet dans le domaine public ; elle dispose par ailleurs de caractéristiques pharmacologiques qui pourraient en faire une alternative de choix pour la prise en charge des cas de méningites à *Neisseria meningitidis* pendant les périodes épidémiques. Nous avons réalisé un essai clinique randomisé d'équivalence afin de comparer l'efficacité de ces deux molécules dans la prise en charge des méningites à méningocoques. Les 2 traitements étaient proposés selon un protocole d'une injection renouvelable une fois entre la 24^e et la 48^e heure de suivi, selon l'évolution clinique des patients. Cet essai s'est déroulé au Niger, dans 8 structures de soins des régions de Zinder et Maradi au cours de l'épidémie de l'année 2003. Les patients inclus étaient les cas cliniquement suspects de méningite, les cas confirmés étaient ceux pour lesquels la présence de *Neisseria meningitidis* était retrouvée dans le Liquide Céphalo Rachidien (LCR). La comparaison des 2 traitements s'est faite sur les taux d'échecs thérapeutiques à la 72^e heure, représentés par le décès ou l'échec clinique, la létalité à 72 heures, les taux de réinjections entre la 24^e et la 48^e heure et les taux de séquelles à 72 heures. Deux types d'analyses ont été menées : une analyse per protocole incluant seulement les cas confirmés pour lesquels aucune autre pathologie infectieuse n'avait pu être diagnostiquée et une analyse en intention de traiter, incluant l'ensemble des cas suspects. L'échantillon était constitué de 510 patients, inclus et randomisés par groupe de traitement, dont 354 (69%) avaient un LCR infecté à *Neisseria meningitidis*. Parmi eux, 503 ont été suivis pendant les 72 heures (247 traités par ceftriaxone, 256 par chloramphénicol) dont 308 présentaient une méningite à méningocoques sans autre cause infectieuse identifiée (160 traités par ceftriaxone, 148 traités par chloramphénicol). Les 2 groupes de traitement ne présentaient pas de différence importante à l'admission en ce qui concerne les facteurs pronostiques de l'infection. Parmi les 503 patients, 26 (5%) sont décédés, tous avant la 30^e heure de suivi, 18 (3,6%) étaient considérés en échec clinique à la 72^e heure. Pour l'ensemble des cas suspects de méningite, les taux d'échec thérapeutique étaient respectivement de 8,6% et de 8,9% dans les groupes chloramphénicol et ceftriaxone, soit une différence entre les 2 traitements de 3% (IC90% = -0,04 - 0,05). Pour les cas de méningite confirmés sans autre pathologie, la différence entre les taux d'échec thérapeutique de la ceftriaxone et du chloramphénicol était de 4% (IC90% = 0,05 - 0,04). Au total, 35 (7%) patients ont été réinjectés et ce dans des proportions équivalentes entre les 2 groupes de traitement. Notre essai clinique permet de conclure à l'équivalence du chloramphénicol huileux et de la ceftriaxone sur un protocole court, d'une injection renouvelable une fois, dans le traitement des méningites à méningocoques en période épidémique. L'équivalence a été démontrée sur l'ensemble des critères de jugements pour les cas cliniquement suspects de méningite comme pour les cas de méningite confirmée. La ceftriaxone, d'un coût moins élevé, représente la meilleure alternative au chloramphénicol huileux. Néanmoins, avant d'utiliser ce protocole lors des prochaines épidémies, il est important de s'interroger sur les risques de développement de résistances qui pourraient découler de l'introduction à large échelle de la ceftriaxone dans les structures de soins africaines. ■

CD-ROM DE FORMATION SUR LE CONSEIL AU VOYAGEUR DESTINÉ AU PHARMACIEN ET À L'ÉTUDIANT EN PHARMACIE

L. BERARD, A. BROSSE

Le pharmacien est un acteur de santé qui a un rôle à jouer en matière de prévention des maladies tropicales auprès du voyageur. Certaines études montrent cependant l'indigence du conseil pharmaceutique dans ce domaine. Il apparaît, en effet, que près d'un tiers des voyageurs partant pour un pays tropical n'aurait pas la chimioprophylaxie antipaludique requise et qu'un voyageur sur trois n'utiliserait pas correctement les répulsifs, produit de lutte contre le vecteur du paludisme, parasitose potentiellement mortelle chez le sujet non immun. Ce CD-Rom, support plus attractif qu'un support papier, regroupe à la fois des rappels théoriques sur les principales maladies tropicales parasitaires et infectieuses mais également des cas cliniques interactifs, permettant une remise à niveau sur le sujet pour le pharmacien et l'étudiant en pharmacie. Ce travail a pu être réalisé grâce au logiciel GenDoc, outil développé par le laboratoire CLIPS-IMAG de la faculté des sciences de Grenoble. Ce logiciel permet de créer des objets pédagogiques, c'est à dire des diaporamas et des exercices résolus, destinés à développer l'autonomie d'apprentissage de l'utilisateur ■

ÉPIDÉMIOLOGIE DES HÉPATITES C AIGÜES AU CAIRE, EGYPTÉ

F. COLOMBANI

L'Égypte a la prévalence du virus de l'hépatite C (VHC) la plus élevée au monde (20% à 30% en population adulte en zone rurale). L'origine iatrogène de cette épidémie a été attribuée aux campagnes de traitement de masse de la bilharziose dans les années 60-70, avec des seringues mal stérilisées. L'arrivée du traitement par voie orale par praziquantel en 1982 a permis d'arrêter cette chaîne de transmission. Néanmoins plusieurs arguments suggèrent que la transmission continue actuellement. Pour la documenter, il faudrait identifier les hépatites aiguës C pour en déterminer les facteurs de risque spécifiques. Appliquer les critères diagnostiques d'hépatite aiguë C, élaborés par un comité d'expert, aux hépatites virales aiguës symptomatiques hospitalisées dans deux hôpitaux publics à orientation infectieuse du Caire. L'objectif secondaire est de déterminer les facteurs de risque actuels d'hépatite aiguë C en Égypte. Enquête prospective sur 6 mois dans les deux hôpitaux publics à orientation infectieuse du Caire, des cas incidents d'hépatites virales aiguës symptomatiques, incluant des patients de tous âges, consultant pour symptômes évoluant depuis moins de deux semaines, et ayant des transaminases ALAT supérieures à trois fois la normale. La définition des hépatites virales aiguës : 1) hépatite aiguë A pour des IgM anti-VHA positifs ; 2) hépatite aiguë B pour des IgM anti-HBc positifs ; 3) hépatite aiguë C "typique" pour des IgG anti-VHC négatifs et un ARN VHC positif ; 4) hépatite aiguë C "à séroconversion précoce" pour des IgG anti-VHC positifs et un ARN VHC positif ainsi que les critères additionnels suivants : sérologie des hépatites A et B, la PCR du VHE, les sérologies CMV, Toxoplasmose, et EBV négatives, pas de prise d'hépatotoxiques depuis deux semaines, ALAT supérieure à quatre fois la normale, et présence de facteurs de risque d'hépatite C au cours des deux mois précédents. Parmi les 339 patients hospitalisés, nous avons retrouvé 123 hépatites aiguës A, 90 hépatites aiguës B, 10 hépatites aiguës C "typiques", 5 hépatites à "séroconversion précoce", et 30 hépatites C chroniques, les autres étant des hépatites non C ou survenant sur des hépatites C guéries. Des facteurs de risques plausibles (procédures invasives, toxicomanie intraveineuse) n'ont été retrouvés que chez seulement 11 sujets parmi les 15 diagnostiqués hépatite aiguë C. Les autres patients pourraient avoir été infectés par des procédures invasives mineures non reconnues. Les hépatites aiguës C diagnostiquées dans cette étude (4,4% [IC95% : 2,5% -7,2%] des hépatites symptomatiques) témoignent de la transmission actuelle du virus dans la population égyptienne. L'hypothèse que des procédures invasives mineures puissent être responsables de transmission d'hépatite C dans un pays à prévalence très élevée reste ouverte ■

PRÉSENTATION CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DE L'INFECTION PAR LE VIH EN RÉPUBLIQUE DE DJIBOUTI A PROPOS DE 105 PATIENTS

A. JOUVION

L'étude prospective, menée du 01/09/01 au 31/08/03 à l'hôpital Bouffard a inclus consécutivement 105 malades. Deux patients sur trois étaient djiboutiens. Le sex ratio (M/F) était de 1,1. L'âge moyen était de 33,6 ans, les femmes étant plus jeunes que les hommes. La contamination était hétérosexuelle dans 87,6 % des cas. A l'inclusion, 62 malades étaient d'emblée au stade C de la maladie et l'indice de Karnofsky était inférieur à 40 % chez 26 patients. La durée moyenne du suivi était de 226 jours, avec 6,9 infections opportunistes par an. Les principales infections opportunistes étaient : candidose (48,6 %), tuberculose (41,9 %), infections cutanées (38,1 %), protozooses digestives (25,7 %). A l'issue de l'étude, 35,2 % des sujets sont décédés, 16,2 % perdus de vue, 3,8 % transférés, et 44,8 % étaient encore suivis. Seuls 14,3 % ont pu accéder au traitement antirétroviral. Le profil clinique se caractérise par une population jeune et un diagnostic tardif. Le spectre étiologique des infections opportunistes était dominé par les candidoses (78,5/100 PAO) et la tuberculose (67,7/100 PAO). Le taux d'incidence de la tuberculose sur sida se situe parmi les plus hauts niveaux mondiaux, avec un grand polymorphisme clinique, et notamment 21 % de mycobactériemies en cas de fièvre prolongée. L'étude bactériologique montre aussi l'absence d'isolement de mycobactéries atypiques, l'existence de tuberculose à *Mycobacterium canetti* (4 cas, 2 septicémies) et un taux élevé de multirésistance de *M. tuberculosis* (8/44 cas documentés, dont 2 résistances à la ciprofloxacine). L'extrême fréquence de la co-infection VIH-tuberculose pose régulièrement le problème de la classification et entrave la mise en route d'une trithérapie antirétrovirale. La sévérité de la maladie justifie les efforts thérapeutiques entrepris à l'échelon national ■

CHIMIOSENSIBILITE *IN VITRO* DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* ET ÉTUDE DES MUTATIONS GÉNÉTIQUES ASSOCIÉES À LA RÉSISTANCE DANS LA RÉGION DE DAKAR À PROPOS DE 50 ISOLATS PRÉLEVÉS À L'HÔPITAL PRINCIPAL DE DAKAR

I. DIALLO

Le paludisme à *P. falciparum* constitue un problème majeur de santé publique. A l'échelon mondial le constat est alarmant : 41% de la population mondiale répartie dans plus de cent pays serait exposée au paludisme. L'Afrique inter tropicale réunit à elle seule 90% des cas. Dans ces régions, le tiers des consultations dans les dispensaires et le quart des hospitalisations sont en rapport avec un accès palustre. L'accroissement de la morbidité et de la mortalité dans ces régions est en rapport avec une situation thérapeutique devenue difficile : la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine est mentionnée dans toutes les zones d'endémie, tandis que la résistance aux autres molécules est en train de se développer. Le Sénégal n'échappe pas à ce constat. Environ 8000 décès dus au paludisme y sont enregistrés chaque année. Il est donc important de surveiller l'efficacité des médicaments utilisés dans le traitement du paludisme afin de pouvoir instaurer des stratégies thérapeutiques efficaces pour lutter contre ce fléau. Notre étude s'inscrit dans cette démarche. Elle a été réalisée dans le cadre d'un partenariat entre l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées (IMTSSA) de Marseille et l'Hôpital Principal de Dakar pendant la saison de transmission palustre 2002. Les objectifs sont d'évaluer le niveau de sensibilité *in vitro* des isolats de *P. falciparum*, d'étudier les mutations au niveau du gène du transporteur de la chloroquine (Pfcr), du gène de la dihydrofolate réductase (dhfr) et du gène de la dihydroptéroate synthétase (dhps) de *P. falciparum*, de rechercher des corrélations entre les mutations génétiques, la résistance *in vitro* et la présentation clinique. Le recrutement s'est fait entre octobre et décembre 2002 en incluant les patients présentant une fièvre et une goutte épaisse positive à *P. falciparum*. Nous avons recueilli les données épidémiologiques, cliniques, paracliniques et évolutives. Les prélèvements étaient envoyés sous 72 heures au laboratoire de parasitologie de l'IMTSSA à Marseille. Le microtest isotopique a été utilisé pour la chimiosensibilité *in vitro* et l'expression des résultats s'est faite en fonction de la concentration inhibitrice 50% (CI50). Les sensibilités des isolats à la chloroquine, à la quinine, au cycloguanil, à la pyriméthamine, à l'atovaquone, à la méfloquine, à l'halofantrine, à l'artésunate et à la doxycycline ont ainsi été testées. A partir de ces isolats, nous avons également réalisé un génotypage de résistance aux antimétabolites par l'étude des mutations de la dhfr, à la sulfadoxine par l'étude des mutations de la dhps et à la chloroquine en relation avec les mutations du gène Pfcr. Au total, 50 patients ont été inclus, regroupant des accès simples et graves de paludisme. Notre échantillon représente 42% des malades hospitalisés pour paludisme à l'Hôpital Principal de Dakar durant la période de l'étude. La majorité des patients présentait un paludisme grave selon les critères de l'OMS, soit 62,5% (30/48). L'élément clinique le plus constant était la fièvre. La température moyenne était de 38°7. Les troubles de la conscience et l'ictère étaient également fréquemment rencontrés. Sur le plan biologique, la thrombopénie était rencontrée dans 69% des cas (26/38) et le plus souvent chez les patients présentant un paludisme grave. Une anémie sévère a été retrouvée dans seulement 3% des cas (1/38). Une acidose et une insuffisance rénale étaient présentes dans environ 7% des cas (1/9 et 2/33). L'étude de la chimiosensibilité *in vitro* de *P. falciparum* a montré que plus de 50% des isolats analysés étaient résistants à la chloroquine (12/23) (CI50 > 100nM) et au cycloguanil (17/22) (CI50 > 500nM) et 4% (1/23) à la quinine (CI50 > 800nM). La résistance à la méfloquine (CI50 > 30nM) et à l'halofantrine (CI50>6nM) était respectivement de 13,4% (3/22) et 8,7% (2/23). La résistance à l'atovaquone (CI50 > 6nM) était de 31,9% (7/22). Nous n'avons pas observé de résistance à l'artésunate (CI50 > 10,5nM) (11 isolats). La doxycycline a été testée mais il n'y a pas encore de seuil défini pour cette molécule et nous avons exclu de l'étude les résultats concernant la pyriméthamine dans la mesure où les effectifs analysés étaient faibles (3 souches dont 2 résistantes). Il n'a pas été observé de corrélation entre les résistances aux différents antipaludiques. L'étude des mutations génétiques a montré que 65% (26/40) des souches présentaient une mutation K76T du gène Pfcr et 60% (24/40) une triple mutation sur les codons 51, 59 et 108 du gène dhfr. Dix (3/30) et vingt p. cent (6/30) des souches présentaient une mutation respectivement sur les codons 436 et 437 du gène dhps en relation avec la résistance à la sulfadoxine. Le taux de souches présentant à la fois la triple mutation du gène dhfr et au moins une mutation du gène dhps est de 20% (6/30). Seules 15% (5/30) des souches avaient l'ensemble des mutations sur les trois gènes analysés. Nous avons observé une corrélation entre le niveau de résistance *in vitro* au cycloguanil et à la chloroquine et la présence de mutations sur les gènes dhfr et Pfcr. Il n'a pas été observé de corrélation entre le niveau de sensibilité *in vitro* ou la mutation génétique observée avec la forme clinique simple ou grave du paludisme. Le niveau de résistance à la chloroquine au Sénégal ne cesse d'augmenter depuis son apparition en 1984 passant de 7% en 1987 à 10% en 1989 et 32% en 1994. Notre étude confirme cet état de fait et montre également les liens entre cette résistance et les mutations du gène Pfcr. Ces données s'expliquent par la probable pression médicamenteuse. L'alternative de l'association pyriméthamine-sulfadoxine comme traitement de première ligne est également à discuter, attendu que 60% (24/40) des souches présentaient une triple mutation sur le gène dhfr, 30% (9/30) au moins une mutation sur le gène dhps et 20% (6/30) à la fois les mutations du gène dhfr et au moins une mutation du gène dhps. Aussi faudra-t-il craindre une augmentation rapide du taux d'échecs thérapeutiques à cette association qui n'était que de 7% en 2000. Le génotypage des gènes dhfr et dhps constitue une alternative à la difficulté de tester les antimétabolites *in vitro*. La quinine garde toute sa place dans le traitement du paludisme grave à Dakar. L'artésunate est une excellente alternative en terme de chimiosensibilité. Les résultats concernant les autres molécules sont comparables aux précédentes études réalisées au Sénégal. Les taux très élevés de résistance au cycloguanil (22% en 1996, 56% en 2001 et notre étude 77,3% en incluant les souches présentant une résistance intermédiaire) posent le problème de la chimioprophylaxie du voyageur. Il apparaît probable que l'association chloroquine-pyriméthamine ne puisse plus être raisonnablement recommandée en chimioprophylaxie de première intention chez un sujet non-immun se rendant au Sénégal. Nous n'avons pas trouvé de relation entre la présentation clinique et la chimiosensibilité. Il existe donc un véritable polymorphisme de chimiosensibilité posant le problème de l'association d'antipaludiques au Sénégal pour limiter le désastre causé par le paludisme et la chimiorésistance. Ceci confirme la nécessité, s'il en était besoin, de réévaluer la stratégie thérapeutique du paludisme, qui était proposée au Sénégal en vue de prévenir une augmentation de la morbidité et de la mortalité palustres.

Ceci va dans le même sens que la conférence nationale de consensus qui s'est tenue à Dakar au mois de juin 2003. Les résultats de cette étude révèlent par ailleurs un aspect du paludisme urbain qui est une nouvelle entité due à une faible prémunition vis-à-vis du paludisme dans les zones de faible transmission et aux mouvements de population entre la zone rurale et la zone urbaine ■

ÉTUDE DE LA PRISE EN CHARGE DE LA LÈPRE INFANTILE

G. WELADJI

À Madagascar, la lèpre infantile demeure encore un problème de santé publique puisque 14,16% des nouveaux cas enregistrés à la mi-février 2003 sont des enfants. Notre travail sur la prise en charge de la lèpre infantile, réalisée au centre privé d'Ambatoabo, porte sur les difficultés du diagnostic de lèpre chez l'enfant. Pour y parvenir, nous avons retenu le profil épidémioclinique de 99 enfants hospitalisés au centre entre janvier 2000 et décembre 2003. Afin de mieux comprendre la perception de la lèpre qu'ont les médecins généralistes, nous avons questionné 55 médecins des districts sanitaires de Manakara, Vohipeno, Farafangana et Vangaindrano. De cette étude, il ressort que la lèpre infantile, essentiellement de forme multibacillaire touche surtout les enfants de 10 à 14 ans. La précarité, l'insuffisance de la formation des personnels de santé, la simplification des critères de diagnostic, l'arrêt ou la réduction de la bacilloscopie dans les localités où elle existe et l'enclavement de certaines régions hyperendémiques entravent la prise en charge efficace de la lèpre infantile. Néanmoins, son diagnostic précis reste d'une importance fondamentale pour l'étude épidémiologique. Ainsi, si l'insuffisance du sous-diagnostic favorise la poursuite de la transmission, le sur-diagnostic, lui, implique un sur-traitement par des antibiotiques dont la preuve de toxicité reste mal élucidée chez les plus jeunes. Cependant, si des questions restent encore sans réponse, il faut souligner qu'un espoir existe grâce au séquençage du génome du *Mycobacterium leprae* qui permettrait à court terme la mise au point d'un test cutané favorisant le diagnostic précoce de la lèpre infantile ■

POLYMORPHISME ALLÉLIQUE DU GÈNE MSP 2 DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* ET PATHOGENIE DE L'ANÉMIE PALUSTRE SÉVÈRE CHEZ DES ENFANTS DE 0 À 5 ANS DE LA PROVINCE DU BOULGOU (BURKINA FASO)

ISSIAKA SOULAMA

Durant la saison de haute transmission palustre de 2001, nous avons étudié les allèles du gène MSP-2 de *Plasmodium falciparum* chez des enfants de 0 à 5 ans. Le service de pédiatrie du CHR de Tenkodogo, les villages de Zana et de Gourganbaga de la province du Boulgou ont servi de cadre pour cette étude. Les cas de paludisme grave, définis selon les critères de l'OMS, recrutés au service de pédiatrie du CHR, ont été repartis en cas graves anémiques et en cas graves non anémiques selon que le taux d'hémoglobine est inférieur ou supérieur à 5g/dl. Les cas de paludisme non grave ont regroupé les enfants présentant à l'examen du sang périphérique des formes asexuées de *Plasmodium falciparum*, sans aucun signe de gravité de paludisme, cela quelle que soit la température axillaire. Au total, 405 enfants de 0 à 5 ans ont été inclus dans l'étude : 102 cas de paludisme grave anémique (âge moyen = $1,3 \pm 0,9$ ans) ; 107 cas de paludisme grave non anémique (âge moyen = $1,9 \pm 1,2$ ans) et 196 cas de paludisme non grave (âge moyen = $3,0 \pm 1,6$ ans). L'analyse des résultats montre que la prévalence des souches 3D7 de *P. falciparum* est statistiquement plus élevée chez les cas graves non anémiques. Par contre, il n'y a pas de corrélation entre la prévalence des souches FC27 et le paludisme grave anémique. Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative au niveau de la poly clonalité entre les trois entités cliniques et la plupart des enfants dans ces trois entités hébergeait 2 à 3 souches de *P. falciparum*. Mais, l'analyse de la complexité montre que le paludisme grave anémique est associé à une complexité élevée des souches FC27. Cependant, la complexité des souches 3D7 est statistiquement identique dans les trois entités cliniques. En outre, l'étude a révélé une augmentation non significative de la complexité avec la densité parasitaire ■

ÉTUDE DE LA TRYPANOSOMIASE HUMAINE AFRICAINE DANS LE FOYER DE BODO (TCHAD)

A. KOIBE MACOBEI

La trypanosomiase humaine africaine (THA) ou maladie du sommeil décrite depuis plus d'un siècle continue de faire des ravages en Afrique intertropicale. Elle est même classée parmi les maladies re-émergentes prioritaires d'après l'OMS. Bodo est le foyer le plus actif du Tchad. Mais les techniques de dépistage nécessitent une spécificité et une sensibilité optimales. Par ailleurs, le coût des différentes techniques peut aller du simple au centuple. Nos objectifs étaient de déterminer la prévalence de la THA dans le foyer, d'identifier les facteurs épidémiologiques en rapport avec cette prévalence et d'évaluer la stratégie diagnostique utilisée. Il s'agit d'une étude transversale descriptive durant une prospection qui a eu lieu du 13 novembre au 7 décembre 2002 à Bodo et concerné tous les habitants des 53 villages retenus du foyer. La stratégie diagnostique a associé le CATT sur sang total, premier filtre des suspects, puis la dilution du sérum, la chaîne parasitologique avec la ponction ganglionnaire suivie de la centrifugation par tube capillaire (CTC) et enfin, la mini colonne échangeuse d'ion (m-AECT). L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel Epi 6 Info. L'évaluation de la stratégie a été faite sur les critères d'efficacité, de sensibilité, de spécificité et des valeurs prédictives. Le calcul des coûts et de l'efficacité qui en découlent ont été faits d'après les estimations du rapport du comité d'expert de l'OMS sur la THA (série 881) de 1998. 16 273 personnes ont été visitées pour une population estimée de 25231 habitants, soit un taux de couverture de 64 %. 361 malades ont été dépistés dont 226 étaient en phase 1 et 133 en phase 2. Parmi ces malades, il y avait 248 hommes contre 133 femmes soit un sex ratio H/F = 2,2. Le test du χ^2 a montré que le sexe masculin était plus exposé ($p < 0,005$). La moyenne d'âge était de 29 ans. La

classe d'âge qui a fourni le plus de malades est celle des personnes en activité (21-60 ans). Mais la différence n'était pas statistiquement significative. C'est plutôt la classe d'âge des plus de 60 ans qui est la plus exposée ($p < 0,005$). La répartition spatiale des villages montre que la prévalence nulle à Bodo et sa périphérie augmente en allant vers le sud et l'est, en direction de la rivière Mandoul, avec des extrêmes de 0 et 20 %. 1021 sujets ont été positifs au CATT/sang total dont 602 avec une dilution du sérum inférieure à 1/8, 480 supérieure ou égale à 1/8 et 30 anciens trypanosomés. La ponction ganglionnaire est l'examen qui a détecté le plus de malades avec 182 (52,6 %), suivie de la CTC, 121 (35 %) puis la mini colonne échangeuse d'ions 12 (3,5 %). L'efficacité parasitaire a été en moyenne de 55,3 % : ponction ganglionnaire (61,5 %), CTC (56,8 %) et m-AECT (16,7 %). La stratégie diagnostique a été assez fiable et valide avec une sensibilité de 57,6 %, une spécificité de 93,4 %, une valeur prédictive du résultat positif de 79,8 %, une valeur prédictive du résultat négatif de 83,2 % et une valeur globale de 82,5 %. De plus, il y avait une forte corrélation entre la chaîne de diagnostic parasitologique et la dilution du CATT à 1/8 ($p < 0,005$). Le coût total du test de dépistage sérologique a été de 8 787,4 USD. Le coût du test de dépistage par habitant a été de 0,54 USD. Le coût total de la confirmation parasitologique a été de 1 267,6 USD dont 43,5 % pour la dilution du sérum, 35,3 % pour la ponction lombaire, 16,8 % pour la mini colonne, 3,4 % pour la CTC et 0,70 % pour la ponction ganglionnaire. Le coût de la confirmation parasitologique par malade a été de 3,5 USD. La ponction ganglionnaire utilisée depuis l'époque de Jamot a été la technique la plus efficace et la plus efficiente. ■

ÉVALUATION *IN VIVO* ET *IN VITRO* DE LA SENSIBILITÉ DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* À LA CHLOROQUINE, À L'AMODIAQUINE ET À LA QUININE

S. BAMBA

Le paludisme, endémie parasitaire majeure, constitue un véritable problème de santé publique dans le monde et particulièrement dans les pays sous développés. Au Burkina Faso en particulier dans la région de Bobo-Dioulasso, le paludisme sévit sous forme endémique avec une recrudescence saisonnière et, il constitue la première cause de mortalité et de morbidité. Ceci est aggravé par l'apparition et l'extension géographique médicamenteuse antipaludique de la résistance dans toutes les principales zones d'endémie palustre, surtout en Afrique sud saharienne. Eu égard à l'urgence que constitue la lutte contre ce fléau, nous avons mené une étude de chimio-sensibilité du *Plasmodium falciparum* sous l'initiative et la direction du centre Muraz dans la région de Bobo-Dioulasso. Les objectifs étaient de déterminer la sensibilité *in vivo* de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine selon le protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) de 14 jours ; déterminer la sensibilité *in vitro* à la chloroquine, à l'amodiaquine et à la quinine des souches locales de *P. falciparum* par le micro-test isotopique complet ; d'évaluer l'efficacité de la chloroquine à travers une étude comparative des résultats *in vivo/in vitro* sur les souches de *P. falciparum*. L'étude s'est déroulée en milieu urbain de Bobo Dioulasso (capitale économique du Burkina Faso) du mois d'août au mois de décembre 2002. La population d'étude est constituée d'enfants fébriles avec une température axillaire supérieure ou égale à 37°C ou présentant des signes cliniques évocateurs de paludisme ; et qui sont venus en consultation au niveau de la formation sanitaire d'Accart ville à Bobo Dioulasso. Le travail s'est déroulé en 3 volets dont l'étude *in vivo*, *in vitro* et *in vivo/in vitro*. L'utilisation conjointe des techniques *in vivo* et *in vitro* permet de mieux comprendre l'épidémiologie de la résistance de *P. falciparum* dans les régions d'endémie palustre. La surveillance régulière du niveau de sensibilité de *Plasmodium falciparum*, doit demeurer une priorité des programmes nationaux de lutte contre le paludisme. Le Burkina Faso, à l'instar des autres pays sous développé, est confronté aux problèmes de résistance du parasite aux traitements. La chloroquine garde encore son efficacité en milieu urbain de Bobo Dioulasso. Cependant, des efforts multisectoriels doivent être menés pour qu'elle puisse garder aussi longtemps que possible cette place. L'amodiaquine a montré une efficacité supérieure à celle de la chloroquine. Elle pourrait être prescrite en lieu et place de la chloroquine, afin de réduire la pression médicamenteuse de cette dernière, donc d'augmenter son efficacité. Il serait souhaitable de garder la quinine pour les cas de paludisme grave, afin quelle reste le traitement efficace. ■