



---

EVALUATION ET SURVEILLANCE DE  
L'EFFICACITÉ DES ANTIPALUDIQUES  
POUR LE TRAITEMENT DU PALUDISME  
À *PLASMODIUM FALCIPARUM*  
NON COMPLIQUÉ

---



Organisation mondiale de la Santé  
Genève

***Contributions :***

Peter Bloland, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, Etats-Unis d'Amérique  
Pascal Ringwald, Faire reculer le paludisme, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse  
Robert W. Snow, Université d'Oxford, Royaume-Uni; Kenya Medical Research Institute, Nairobi, Kenya

***Comité de lecture :***

Adeel Ahmed, Kevin Baird, Andrea Bosman, Umberto D'Alessandro, Piero Olliaro, Allan Schapira,  
William Watkins

***Pour de plus amples informations, veuillez contacter :***

Dr Pascal Ringwald  
Organisation mondiale de la Santé  
20, avenue Appia – CH-1211 Genève 27, Suisse  
Tél. +(41) 22 791 3469  
Fax : +(41) 22 791 4824  
Mél : ringwaldp@who.int

***Photos :*** OMS/A. Crump

© Organisation mondiale de la Santé 2004

Tous droits réservés.

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent, de la part de l'Organisation mondiale de la Santé, aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières et limites. Les lignes en pointillé sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé ne garantit pas l'exhaustivité et l'exactitude des informations contenues dans la présente publication et ne saurait être tenue responsable de tout préjudice subi à la suite de leur utilisation.

Les opinions exprimées dans la présente publication n'engagent que les auteurs cités nommément.

# SOMMAIRE

<b>1. Introduction</b>	5
<b>2. Généralités</b>	6
2.1 Mise au point du test <i>in vivo</i> standardisé de l'OMS	6
2.2 Importance des tests <i>in vivo</i> pour l'élaboration d'une politique de traitement du paludisme	7
<b>3. Vue d'ensemble du projet d'étude</b>	9
<b>4. Population d'étude</b>	10
4.1 Classe d'âge cible	10
4.2 Critères d'inclusion	10
4.3 Critères d'exclusion	11
<b>5. Méthodes d'étude et procédures</b>	13
5.1 Vue d'ensemble	13
5.2 Considérations relatives à la taille de l'échantillon	13
5.3 Méthode de dépistage	14
5.4 Evaluation clinique initiale/évaluation lors du recrutement	14
5.5 Consentement éclairé	15
5.6 Traitement	15
5.7 Durée de suivi recommandée	15
5.8 Calendrier de suivi	16
5.9 Traitement de secours	18
5.10 Définition des critères de jugement de l'étude	19
5.11 Détermination des résultats de l'étude	20
<b>6. Considérations d'ordre éthique</b>	23
<b>7. Gestion et analyse des données</b>	24
7.1 Gestion des données	24
7.2 Analyse des données	24
7.3 Utilisation des données pour la mise à jour de la politique de traitement	25
7.4 Présentation des résultats	27
<b>8. Considérations d'ordre technique et contrôle de qualité</b>	28
8.1 Températures	28
8.2 Poids corporels	28
8.3 Etalements de sang	28
8.4 Evaluation hématologique	30
8.5 Qualité des médicaments	31

<b>9. Evaluation de la validité de l'étude</b> .....	32
<b>10. Détermination de l'intensité de la transmission du paludisme</b> .....	33
<b>11. Recommandations relatives à la création d'un système de surveillance de l'efficacité des médicaments par des sites sentinelles</b> .....	35
<b>Références</b> .....	37
 <b>Annexes</b>	
1. Définition du paludisme grave .....	40
2. Prise de décision éclairée .....	41
3. Détection des antipaludiques dans les urines .....	43
4. Taille minimum de l'échantillon .....	46
5. Exemples de dossiers individuels .....	47
6. Traitements .....	50
7. Papier filtre servant au prélèvement et à la conservation des échantillons pour les études sur les marqueurs moléculaires .....	53
8. Calendrier de suivi de base .....	54
9. Classification des réponses au traitement .....	56
10. Calcul à la main des courbes de survie de Kaplan-Meier .....	57
11. Préparation des réactifs .....	58
12. Classification de l'endémie palustre .....	59
13. Matériel standard nécessaire pour le test d'efficacité thérapeutique .....	60
14. Exemple de table des matières d'un protocole .....	62

# 1. INTRODUCTION

*La résistance aux antipaludiques est apparue comme une menace majeure pour les efforts de lutte antipaludique actuellement déployés. Comme il arrive de plus en plus fréquemment que la résistance se développe contre un ou plusieurs antipaludiques, les programmes de lutte contre le paludisme et autres institutions concernées doivent être en mesure d'évaluer l'efficacité de ces derniers de façon à obtenir en temps utile des informations pertinentes, fiables et compréhensibles.*

5

Les données tirées de ces évaluations sont essentielles non seulement pour confirmer que les recommandations actuelles relatives au traitement correspondent aux besoins des malades, mais aussi, si ce n'est pas le cas, pour apporter des preuves convaincantes de la nécessité de modifier ces recommandations. Lorsque de telles évaluations sont effectuées régulièrement dans un nombre raisonnable et représentatif de sites, les programmes doivent être en mesure de surveiller l'efficacité des médicaments de façon à permettre de modifier les recommandations ou politiques de traitement suffisamment tôt pour réduire au minimum les effets d'un schéma thérapeutique inefficace.

L'objectif premier de ce protocole est de fournir des indications sur la façon d'obtenir les informations essentielles **minimales** concernant la réponse clinique et parasitologique aux antipaludiques dans les populations les plus exposées au risque de morbidité grave ou de mortalité par paludisme. Ce protocole est par conséquent principalement destiné à servir d'outil pour la collecte des renseignements cliniques pertinents nécessaires à l'élaboration d'une politique de traitement basée sur l'évidence. Il n'est pas destiné à servir de protocole de recherche biomédicale traditionnel, ni à

remplacer les essais cliniques bien conçus menés dans le cadre des lignes directrices relatives aux bonnes pratiques cliniques qui doivent être effectués lorsque l'on étudie un nouveau traitement pour lequel il n'y a pas suffisamment d'expériences d'utilisation clinique sans danger.

On a beaucoup mis l'accent sur le fait de rester aussi simple et pratique que possible. Avec ce protocole, les programmes qui n'ont pas accès à des ressources financières importantes ou à des analyses de laboratoire ultramodernes – très souvent obtenues grâce à une collaboration avec des instituts de recherche médicale – doivent néanmoins être en mesure de produire l'information nécessaire pour veiller à ce que les personnes qui vivent dans leur pays bénéficient du meilleur traitement antipaludique qui soit. Les programmes qui disposent de suffisamment de ressources et de compétences sont invités à recueillir toute autre information supplémentaire qu'ils jugent utile. Toutefois, ils sont également encouragés à recueillir **au minimum** cette série de données de base d'une façon qui soit conforme à ce protocole. Seule une telle standardisation permettra de comparer et d'interpréter les résultats d'une époque ou d'une région à l'autre, ou encore dans une même région.

## 2. GÉNÉRALITÉS

### 2.1 Mise au point du test *in vivo* standardisé de l'OMS

Les premiers rapports bien documentés faisant état d'une résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine ont été rédigés entre 1957 et 1960 en Asie du Sud-Est et en Amérique du Sud (1, 2). Du fait que la chloroquine était devenue le traitement de choix du paludisme depuis sa découverte dans les années 30, il fallait absolument être capable d'évaluer l'étendue de cette résistance dans les régions de transmission du paludisme.

Un système standardisé de tests *in vivo* permettant d'évaluer la réponse de *P. falciparum* à la chloroquine a été mis au point pour la première fois en 1965 (3). Ce système a été officiellement révisé à deux reprises, d'abord en 1967, puis en 1972 (4, 5). La méthodologie issue de ces révisions était assez contraignante, exigeant des examens de sang quotidiens au cours de la première semaine suivant le traitement, suivis d'une période prolongée (28 jours) de surveillance au moyen d'examen sanguins hebdomadaires. Parce que le résultat recherché était avant tout une réapparition des plasmodies pendant la période d'observation, indiquant un échec thérapeutique, les malades étaient gardés dans un environnement exempt de moustiques pour éviter toute réinfestation.

Les modifications apportées ultérieurement ont permis de choisir entre une période d'observation raccourcie de sept jours (le « test standard OMS ») et la période d'observation de 28 jours plus longue (le « test prolongé »), selon qu'il était possible ou non d'exclure une réinfestation. La période d'observation raccourcie permettait d'effectuer le test dans les conditions et avec les contraintes du terrain.

Dans la pratique, les chercheurs ont apporté de nombreuses modifications et variations à ces tests. Ces modifications officieuses du protocole ont commencé à faire apparaître l'utilité d'analyser la réponse clinique au traitement, notamment de calculer les laps de temps nécessaires de la disparition de la fièvre et des symptômes cliniques, la durée écoulée jusqu'à la réapparition des plasmodies et la réponse hématologique (6-9). Du fait de l'accent croissant mis sur la réponse clinique, ces développements ont commencé à prendre en compte des questions telles que les répercussions potentielles d'une immunité acquise sous-jacente et le bien-fondé de l'inclusion de sujets asymptomatiques. En conséquence, on a observé un mouvement visant à n'inclure que les sujets symptomatiques dans le test et, dans les régions de transmission intense, à se concentrer sur la classe d'âge exposée au plus grand risque de morbidité grave et de mortalité (et la moins susceptible d'avoir une réponse immunitaire bien développée contre le paludisme), c'est-à-dire les enfants de moins de 5 ans. On a également observé une tendance à s'écarter de la courte période d'observation de 7 jours pour adopter des périodes d'observation d'une durée suffisante pour déceler des modifications de l'état clinique et des paramètres hématologiques (au moins 14 jours).

Ces efforts ont abouti à un nouveau protocole standardisé élaboré conjointement par les Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Etats-Unis d'Amérique, et l'OMS lors d'un atelier interpays – Traitement antipaludique et résistance au Kenya, en Zambie et au Malawi – qui a eu lieu à Mangochi, Malawi, en 1996 (10).

Au cours de la même période, un second protocole a été mis au point spécifiquement

pour les régions où la transmission du paludisme est faible à modérée, avec dans un premier temps une réunion à Manille (Philippines) en 1996, suivie d'une réunion d'experts à Manaus (Brésil) en 1998 (11). Les recommandations ayant fait suite à une réunion qui s'est tenue à Phnom Penh (Cambodge) en 2000 (12) ont permis d'affiner encore ce protocole.

Malheureusement, alors que ces protocoles répondaient à des priorités programmatiques différentes dictées par des différences dans l'épidémiologie de fond du paludisme, l'existence de deux protocoles « officiels » a entraîné une certaine confusion. Plus important encore, si ces deux protocoles utilisaient les mêmes termes pour classer les échecs thérapeutiques, les définitions des termes proprement dits n'étaient pas les mêmes dans les régions où la transmission est intense que dans celles où elle est faible à modérée. En conséquence, si les protocoles étaient appliqués comme recommandé, il était impossible de comparer les résultats obtenus dans différentes régions du monde – voire dans les régions d'un même pays ayant des taux de transmission extrêmement variables.

Le protocole présenté ici vise à harmoniser ces deux protocoles afin d'en obtenir un seul, standardisé dans le monde entier. De plus, certains problèmes méthodologiques apparus lorsque le protocole de 1996 était en usage ont été corrigés. Les modifications apportées au protocole de 1996 ont fait l'objet de discussions et d'un accord conclu lors d'une consultation informelle qui s'est tenue à Genève en 2001 (13).

Les objectifs de cette consultation étaient les suivants :

- examiner et remettre à jour les protocoles OMS existants destinés à évaluer l'efficacité thérapeutique des médicaments destinés au traitement du paludisme à falciparum non compliqué dans les régions de transmission intense (10) et dans les régions de

transmission faible à modérée (qui n'existent que sous forme de projet) ;

- examiner le projet de lignes directrices relatives à l'évaluation de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine contre *P. vivax* ;
- examiner le rôle potentiel des tests *in vitro* et des méthodes moléculaires actuelles pour détecter les marqueurs de la résistance dans le cadre de la surveillance de la résistance aux antipaludiques ; et
- préciser quels sont les éléments techniques et opérationnels nécessaires pour renforcer la surveillance de la pharmacorésistance des accès palustres à falciparum et à vivax dans les pays.

## 2.2 Importance des tests *in vivo* pour l'élaboration d'une politique de traitement du paludisme

Si les données relatives à l'efficacité du traitement ne représentent qu'un élément d'une vaste série d'informations nécessaires pour élaborer une politique de traitement du paludisme fondée sur l'expérience clinique, les résultats des tests *in vivo* effectués à l'aide de la méthodologie standardisée de l'OMS sont sans aucun doute essentiels. Dans toute l'Afrique, l'Amérique du Sud et l'Asie, les études ayant eu recours à la méthodologie *in vivo* de l'OMS ont fourni des informations précieuses sur l'efficacité des antipaludiques actuellement employés et sur les évaluations initiales des autres schémas thérapeutiques potentiels.

En Asie du Sud-Est, la Thaïlande a été le théâtre des changements les plus importants dans les politiques de traitement, en partie à cause de la rapidité avec laquelle la résistance s'est développée dans ce pays. Depuis 1973, concernant le traitement antipaludique de première intention, la Thaïlande est passée de la chloroquine à la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) plus méfloquine, puis à la méfloquine seule, et enfin à une association de méfloquine et d'artésunate (14). Presque tous les pays

d'Asie du Sud-Est ont soit modifié récemment les recommandations relatives au traitement de première intention du paludisme et ont alors recours à des études *in vivo* pour surveiller l'efficacité des traitements de manière prospective, soit amorcé le processus d'évaluation de l'efficacité du traitement qu'ils recommandent actuellement, au titre de premier pas vers un changement éventuel (12).

La chloroquinorésistance a été rapportée pour la première fois en Afrique de l'Est en 1978 et s'est propagée à l'ensemble du continent au cours des 10 années suivantes. Au fur et à mesure que la résistance s'intensifiait, en particulier en Afrique de l'Est, on a commencé à s'intéresser au fait que les politiques de traitement devraient être modifiées ultérieurement pour passer à des médicaments plus efficaces.

Si le problème de la baisse de l'efficacité de la chloroquine a été bien compris des chercheurs en Afrique, il a eu du mal à faire son chemin chez les responsables de la formulation des politiques nationales de traitement du paludisme (15). Il ne fait aucun doute qu'il y a eu de nombreuses raisons à cette lenteur dans le changement d'attitude, mais il est manifeste que les décideurs – qui n'avaient pas nécessairement des connaissances en recherche biomédicale, voire en médecine – n'ont pas bien saisi les répercussions de l'échec parasitologique ou n'ont pas été convaincus par les données. Ce qui a encore compliqué la situation, c'est que, du fait de l'immunité acquise et de l'effet antipyrétique de la chloroquine, les patients traités par ce produit ont semblé aller mieux, même lorsque dans leur organisme les plasmodies n'avaient pas été éliminées ou étaient réapparues.

Lorsque le protocole *in vivo* a évolué pour se concentrer davantage sur les résultats cliniques, on a également insisté davantage sur la façon de communiquer au mieux, c'est-à-dire de manière compréhensible, accessible et convaincante, les données relatives à l'efficacité des médicaments aux responsables de l'élaboration des politiques.

Si l'Afrique du Sud est passée, pour le traitement de première intention, de la chloroquine à la SP dans une province en 1988, avant tout sur la base de données *in vitro*, le Malawi a été le premier pays d'Afrique à opérer le même changement à l'échelle nationale. L'élan qui a dicté ce changement a été une série d'études *in vivo* qui ont clairement montré des taux élevés d'échecs thérapeutiques avec la chloroquine, la nature temporaire de la réponse clinique initiale favorable et la réponse hématologique insuffisante par comparaison avec celle obtenue avec la sulfadoxine-pyriméthamine, chez des enfants anémiés (16).

Depuis lors, d'autres pays africains ont reconnu la nécessité de procéder à des modifications analogues des politiques de traitement. La création et le succès des réseaux sous-régionaux multipays – tels que l'East African Network for Monitoring Antimalarial Treatment (EANMAT) – ont sensiblement accru l'expérience des pays et leur capacité à effectuer des études *in vivo* fiables. Des réseaux analogues se sont développés ailleurs en Afrique, ainsi qu'en Asie du Sud-Est et en Amérique du Sud. En conséquence, les données relatives à l'efficacité *in vivo* ont pesé davantage dans l'élaboration des politiques nationales de traitement du paludisme (17).

## 3. VUE D'ENSEMBLE DU PROJET D'ÉTUDE

Ce protocole a pour objectif fondamental d'évaluer l'efficacité thérapeutique d'une série d'antipaludiques utilisés pour le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué, en fournissant le minimum d'informations indispensable pour une prise de décision au niveau programmatique. Les études qui suivent cet objectif de base, lorsqu'elles sont effectuées périodiquement dans un certain nombre de sites sentinelles correctement choisis, peuvent également servir de fondement à un système de surveillance capable de suivre l'évolution de l'efficacité des médicaments dans le temps.

Il se présente sous la forme simple d'une évaluation prospective, avec un bras thérapeutique, de la réponse clinique et parasitologique au traitement du paludisme non compliqué sous observation directe de la prise médicamenteuse. Des adjonctions à ce protocole, qui n'en changent pas la conception fondamentale ni le but visé, peuvent être faites et – lorsque c'est techniquement et logistiquement réalisable, par exemple lorsqu'on mesure les concentrations sanguines de médicaments,

qu'on rallonge la période de suivi et qu'on recherche des marqueurs moléculaires pour essayer de distinguer une réinfestation d'une recrudescence – sont même encouragées.

Les programmes souhaiteront probablement évaluer plus d'un médicament. Par exemple, il arrive fréquemment qu'ils évaluent le traitement de première intention qu'ils appliquent, ainsi qu'un ou plusieurs traitements de substitution possibles. En revanche, ce protocole *n'est pas* destiné à l'évaluation de médicaments nouveaux ni expérimentaux ; ce type d'étude, de même que les essais cliniques comparatifs, exigent habituellement que l'on tienne compte d'aspects conceptuels, éthiques et statistiques qui sortent du champ d'action de ce protocole. En outre, celui-ci n'est pas destiné à évaluer des schémas thérapeutiques administrés pendant plus de 3 jours, tels ceux de la quinine (administrée pendant 7 jours), des associations de quinine et de tétracycline ou de doxycycline (administrées pendant 7 jours), ou de l'artémisinine en monothérapie (administrée pendant 5 à 7 jours).



**NOTE :** Les principaux changements apportés au protocole de 1996 et les raisons qui les ont motivés sont présentés dans l'ensemble de ce document dans des encadrés tels que celui-ci.

---

## 4. POPULATION D'ÉTUDE

10

### 4.1 Classe d'âge cible

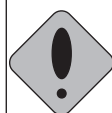
Dans l'ensemble des régions, quelle que soit l'intensité de la transmission du paludisme, l'évaluation des antipaludiques servant au traitement des accès non compliqués doit mettre l'accent sur l'efficacité du traitement chez les enfants de moins de 5 ans présentant un paludisme clinique. La raison en est que, même dans les populations où l'immunité acquise est peu importante (comme c'est le cas dans les régions où la transmission saisonnière du paludisme est faible ou forte), les jeunes enfants présentent souvent une réponse thérapeutique moins favorable aux antipaludiques que les enfants plus âgés et les adultes. Manifestement, dans les régions de faible transmission du paludisme, le recrutement exclusif des enfants de moins de 5 ans risque de poser des problèmes logistiques du fait que les infestations palustres sont relativement peu fréquentes dans cette classe d'âge. En pareil cas, ou quand les jeunes enfants sont nettement moins exposés au risque d'infestation que les adultes, comme cela arrive lorsque l'exposition est professionnelle (comme dans certains pays d'Asie du Sud-Est), on peut recruter dans l'étude des patients de tous âges. Néanmoins, dans la mesure du possible, il est recommandé de recruter suffisamment de malades pour pouvoir stratifier les résultats sur l'âge (< 5 ans et ≥ 5 ans).

### 4.2 Critères d'inclusion

Les malades doivent être choisis sur la base des critères suivants :

- Age situé entre 6 et 59 mois (mais voir remarques sur la classe d'âge cible à la section 4.1 ci-dessus).
- Absence de malnutrition grave (définie comme suit : enfant dont le rapport poids/ taille est inférieur à  $-3$  écart type, ou inférieur à 70% de la médiane des valeurs de référence normalisées NCHS/OMS, ou encore qui présentent un oedème symétrique touchant les deux pieds) (18).
- Une infestation à *P. falciparum* uniquement, confirmée par une goutte épaisse (c'est-à-dire pas d'infestations mixtes).
- Densité parasitaire initiale. L'éventail de densités parasitaires initiales retenues diffère selon l'intensité de la transmission :
  - pour les régions où il y a une transmission faible à modérée du paludisme, l'éventail acceptable se situe entre 1 000 et 100 000 formes asexuées/ $\mu$ l ;
  - pour les régions où la transmission est élevée, l'éventail acceptable se situe entre 2 000 et 200 000 formes asexuées/ $\mu$ l ;

**NOTE :** Ces densités parasitaires recommandées ont été modifiées par rapport au protocole précédent. Ces modifications s'appuient sur la définition de l'hyperparasitémie actuellement acceptée (19).



- Absence de signes généraux de danger chez les enfants de moins de 5 ans (voir Encadré 1) ou d'autres signes de paludisme à *P. falciparum* grave et compliqué tels qu'ils figurent dans les définitions actuelles de l'OMS (voir annexe 1).

**Encadré 1 : Signes généraux de danger liés à un paludisme grave**

- Incapacité à boire ou à prendre le sein
- Le fait de tout vomir
- Antécédents récents de convulsions
- Léthargie ou perte de connaissance
- Incapacité à se tenir assis ou debout

- Température axillaire  $\geq 37,5$  °C ou température rectale/tympanique  $\geq 38,0$  °C.

**NOTE :** Les malades ne seront plus exclus si leur température est  $> 39,5$ °C, conformément aux définitions actuelles du paludisme grave (18).



Pour une discussion sur l'utilisation de la fièvre mesurée ou des antécédents de fièvre, se reporter à l'Encadré 2.

- Se rendre aux visites de suivi indiquées et accès facile au centre de santé.
- Consentement éclairé fourni par le malade ou ses parents/tuteurs (voir exemple, annexe 2).
- Absence d'antécédents de réactions d'hypersensibilité à l'un quelconque des médicaments évalués. L'existence d'antécédents de réactions indésirables à des antipaludiques ou à d'autres médicaments est une information médicale essentielle qui doit être inscrite au stylo rouge ou surlignée dans le dossier du malade. Si de telles réactions à la chloroquine, à la quinine et à la méfloquine sont assez rares et relativement bénignes, les réactions aux médicaments contenant des sulfamides peuvent mettre la vie du patient en danger. On a décrit des réactions d'hypersensibilité aux artémisinines engageant le pronostic vital, mais elles semblent être très rares. Au cas où des antécédents de réactions allergiques à des médicaments, dont la nature précise ne peut être déterminée, ont été rapportés, il est

conseillé d'exclure le malade des tests portant sur le(s) médicament(s) suspect(s) et de lui administrer le traitement de substitution recommandé.

**4.3 Critères d'exclusion**

En général, les critères d'exclusion sont l'inverse des critères d'inclusion. Toutefois, certains médicaments spécifiques ont des critères d'exclusion qui leur sont propres et dont il faut tenir compte (bien que ces derniers soient sujets à des modifications au fur et à mesure que les données s'accumulent). Par exemple, pour l'atovaquone-proguanil, l'artéméther-luméfantrine et l'halofantrine, il y a un âge minimum ou un seuil de poids au-dessous duquel le traitement n'est pas recommandé. De plus, pour les études qui autorisent l'inclusion de patients de plus de 5 ans, d'autres critères d'exclusion peuvent être nécessaires, par exemple la grossesse ou l'allaitement, ou l'existence d'une maladie chronique grave sous-jacente (cardiaque, rénale, hépatique, VIH/SIDA).

Des antécédents d'utilisation d'antipaludiques ou la présence d'antipaludiques dans les urines ou le sang ne constituent pas des critères d'exclusion. Parce que, dans bien des endroits, un traitement antérieur par des antipaludiques est davantage la règle que l'exception, l'exclusion de patients traités antérieurement ne permettrait pas d'obtenir un échantillon représentatif de la population cible (c'est-à-dire des malades venant consulter dans les centres de santé pour le traitement d'un paludisme non compliqué). On a également montré que dans beaucoup d'endroits les antipaludiques peuvent être retrouvés dans le sang ou les urines de sujets qui nient en avoir utilisé auparavant, ce qui laisse à penser que les antécédents de traitement rapportés ne sont pas fiables. Néanmoins, les informations relatives à une utilisation antérieure de médicaments seront soigneusement collectées et notées pour chaque malade et pourront être utilisées pour stratifier les résultats.

C'est particulièrement important pour les antipaludiques d'action prolongée tels que la SP et la méfloquine. Une approche plus fiable pour déterminer l'utilisation antérieure de médicaments consiste à rechercher des antipaludiques dans les urines. Si cela peut

donner une indication plus objective de l'utilisation qui est actuellement faite des médicaments dans la population, ce n'est pas un élément obligatoire de ce protocole. Un certain nombre de tests urinaires sont décrits à l'annexe 3.

### Encadré 2 : Elévation de la température corporelle mesurée ou antécédents de fièvre

Le fait d'avoir à n'utiliser que des élévations de la température corporelle objectivement mesurée (« fièvre mesurée ») par opposition aux antécédents de fièvre rapportés a suscité bien des controverses. On trouvera ci-après une description de certaines des préoccupations et difficultés rencontrées pour définir la fièvre, qui vise à expliquer la raison d'être des recommandations actuelles. Le plus gros problème posé par l'utilisation des antécédents de fièvre rapportés dans ce contexte est leur peu de fiabilité, surtout lorsqu'ils sont rapportés par ceux qui s'occupent de jeunes enfants. De plus, dans bien des cas, ces personnes modifieront leur réponse si elles pensent que l'enfant recevra un traitement différent selon qu'elles auront ou non rapporté la présence d'une fièvre. Par exemple, si la participation à une étude telle que celle-ci est généralement perçue comme bénéfique, la personne qui s'occupe de l'enfant risque de ne pas rapporter correctement les symptômes pour essayer de faire recruter cet enfant dans l'étude. Dans les essais cliniques, la randomisation réduit la probabilité que des biais soient introduits par l'équipe d'étude ; de la même façon, l'utilisation de mesures objectives de la maladie, chaque fois qu'elles sont possibles, réduit les biais potentiels introduits par les évaluations subjectives des personnes qui s'occupent des malades ou du personnel de l'étude.

Par conséquent, la recommandation générale est *que seules des élévations de la température corporelle objectivement mesurées doivent être utilisées* lors du recrutement et des évaluations après traitement. Cette recommandation *n'implique pas* que les sujets parasitémiques sans fièvre apparente n'ont pas besoin d'un traitement. Elle laisse simplement à penser que, pour les besoins de cette évaluation, il faut des mesures objectives de la fièvre pour recruter les sujets dans l'étude. Les malades qui ne satisfont pas à ce critère d'entrée restrictif ont quand même besoin d'un traitement, mais ils le recevront en dehors du cadre de cette évaluation.

Cette recommandation peut être modifiée en fonction de l'intensité de la transmission dans certains cas. Dans les régions où la transmission est faible à modérée, on peut utiliser pour le recrutement dans l'étude et l'évaluation après traitement *des antécédents de fièvre au cours des 24 heures précédentes*. Toutefois, cette modification ne sera appliquée *que* lorsque l'exigence d'une mesure objective de l'élévation de la température corporelle engendrerait des problèmes logistiques et financiers importants dus à la difficulté de recruter des malades et à des périodes prolongées de recrutement. Cette modification *ne doit pas* être apportée si l'on peut identifier en temps utile un nombre suffisant de malades dont la fièvre a été mesurée.

La principale raison qui autorise cette souplesse dans les régions où la transmission est faible à modérée et pas dans celles où elle est forte est la différence observée dans la réponse programmatique habituellement apportée aux résultats des tests *in vivo*. Dans la plupart des régions où la transmission est faible à modérée, la réponse programmatique à la présence d'une parasitémie après traitement n'est pas différente selon qu'il s'agit de malades avec ou sans symptômes cliniques manifestes (c'est-à-dire qu'une parasitémie symptomatique ou asymptomatique est considérée de la même façon, en tant qu'échec thérapeutique, et exige un traitement de secours). Ce n'est pas habituellement le cas dans les régions où la transmission est intense, où la résolution des symptômes cliniques pèse plus lourdement dans la prise de décision que la persistance d'une parasitémie sans symptômes déclarés. La présentation claire des indicateurs cliniques devient par conséquent plus importante dans les régions de transmission intense.

## 5. MÉTHODES D'ÉTUDE ET PROCÉDURES

### 5.1 Vue d'ensemble

Les méthodes d'étude sont scindées en de multiples sections, comprenant les calculs de taille des échantillons, le dépistage, l'évaluation lors du recrutement, les procédures de consentement éclairé, le traitement, l'évaluation du suivi du malade, la définition des critères de jugement de l'étude et la détermination des résultats de l'étude. Des sections supplémentaires porteront sur les considérations d'ordre éthique, les techniques de laboratoire, la gestion des données, l'analyse des données, la notification, le contrôle de la qualité de l'étude et des données, l'évaluation de la validité de l'étude, les recommandations relatives à la détermination du degré d'intensité de la transmission et les recommandations relatives à la création d'un système de surveillance au moyen de sites sentinelles pour déterminer l'efficacité du traitement.

### 5.2 Considérations relatives à la taille de l'échantillon

**NOTE :** Les recommandations actuelles relatives aux méthodes appropriées permettant de calculer la taille de l'échantillon s'écartent beaucoup du protocole OMS le plus récent.



Le protocole antérieur recommandait d'utiliser la méthode de contrôle de la qualité des lots (LQAS) avant tout pour réduire au

minimum la quantité de travail de terrain nécessaire. L'expérience accumulée dans le cadre des évaluations *in vivo* de l'efficacité des antipaludiques laisse à penser que, dans la pratique, cette méthode pose des problèmes méthodologiques et analytiques importants.

La bonne utilisation de la méthode LQAS exige que l'on choisisse de manière aléatoire les patients que l'on va recruter, ce qui est rarement, si ce n'est jamais, le cas en pratique. De plus, de nombreux programmes ont utilisé cette méthode statistique pour justifier le recrutement d'un petit nombre de malades et la réalisation d'études très courtes, mais ont ensuite laissé de côté ou n'ont pas compris les incidences statistiques inhérentes à la méthode (c'est-à-dire que l'étude a souvent été analysée comme si on avait procédé à des calculs de tailles des échantillons classiques). C'est ainsi que dans de nombreux rapports l'interprétation des résultats de l'étude était erronée.

Les recommandations actuelles préconisent donc d'utiliser des méthodes statistiques classiques pour déterminer la taille de l'échantillon, à partir d'une proportion estimée d'échecs thérapeutiques, du niveau de confiance (95%) et du degré de précision (5% ou 10%) voulus. Si cette méthode donne des tailles d'échantillon supérieures à ce qu'elles seraient normalement avec la LQAS, elles entrent encore tout à fait dans les possibilités qu'ont les programmes. Par exemple, dans le cas d'un médicament testé dont le taux d'échec attendu est inférieur à 15%, il faut recruter au minimum 50 malades pour que l'étude soit représentative (voir également annexe 4).

### 5.3 Méthode de dépistage

Pour identifier les patients qui peuvent satisfaire aux critères de recrutement, il faut utiliser une méthode de dépistage rapide dans le cadre d'une structure de soins extra-hospitalière. Les méthodes précisément utilisées, les évaluations cliniques et de laboratoire effectuées et la séquence dans laquelle elles sont effectuées au cours du dépistage peuvent varier d'un site à l'autre. La série de données de dépistage typique comprend l'âge, le sexe, la température, le poids et la taille. Si la situation locale, les ressources et les moyens dont dispose la structure le permettent, les premiers examens d'étalements de sang et la détermination de la concentration d'hémoglobine (ou de l'hématocrite<sup>1</sup>) peuvent être effectués pour tous les patients au cours du dépistage. Autrement, on limitera ces tests aux patients fébriles. Dans la mesure du possible, on conservera un registre dans lequel tous les cas dépistés figureront avec les renseignements suivants : âge, sexe, adresse, température, étalement de sang et, s'il y a lieu, raison pour laquelle ils ont été exclus de l'étude. Ce type d'information peut être très utile pour l'interprétation des données et il peut donner des indications sur le taux de transmission.



**NOTE :** A tout moment, la santé et la sécurité des malades passent avant les modalités de l'étude. Les malades qui sont manifestement gravement atteints doivent immédiatement être pris en charge de la manière appropriée pour l'établissement.

Un dépistage suppose habituellement l'identification rapide de tous les malades potentiels venant consulter dans l'établissement de santé (par exemple

ceux qui viennent dans un dispensaire de consultation pédiatrique), la mesure de la température, du poids et de la taille, et l'enregistrement des renseignements personnels de base (nom, âge, sexe). Si la température axillaire d'un malade dépasse 37,5 °C, on effectuera un prélèvement de sang pour faire une goutte épaisse et mesurer le taux d'hémoglobine. Les malades qui ne satisfont pas à ces critères de base du recrutement sont traités par le personnel de l'établissement conformément à la pratique habituelle ; cependant, tous les résultats cliniques et de laboratoire obtenus au cours du dépistage doivent être communiqués au personnel de l'établissement.

### 5.4 Evaluation clinique initiale/ évaluation lors du recrutement

Tous les malades qui satisfont aux critères de base du recrutement lors du dépistage doivent être évalués de manière plus approfondie par le personnel clinique. On veillera spécialement à déceler la présence ou les signes précoces de maladies fébriles autres que le paludisme, puisque ces dernières nécessiteront probablement que le malade soit exclu de l'évaluation. Dans les populations pédiatriques, l'affection qui prête le plus à confusion est l'infection des voies respiratoires inférieures : la présence d'une toux ou d'une respiration difficile et rapide est un indicateur qui permet d'identifier et d'exclure les malades souffrant de ce type d'affections. La respiration rapide est définie comme suit : fréquence respiratoire > 50/minute chez les nourrissons de moins de 12 mois et > 40/minute chez les enfants âgés de 12 à 59 mois. L'otite moyenne, l'amygdalite, la rougeole et les abcès constituent d'autres affections fébriles relativement communes. On ne recrutera pas dans l'étude les malades présentant ces affections, mais ils auront bien évidemment besoin d'être traités à la fois contre le paludisme (s'ils présentent une parasitémie) et contre l'autre infection le cas échéant.

<sup>1</sup> Volume des érythrocytes par rapport à l'unité de volume sanguin.

On utilisera un dossier individuel pour consigner les informations générales et observations cliniques relatives à chaque malade recruté dans l'étude (annexe 5). Il convient de noter avec un soin particulier les instructions détaillées permettant de retrouver le domicile du malade de façon à pouvoir mettre en place un suivi à domicile si le malade ne revenait pas dans l'établissement de santé pour les visites prévues.

### 5.5 Consentement éclairé

Il convient d'obtenir de tous les patients satisfaisant aux critères de recrutement un consentement éclairé en bonne et due forme. La procédure appliquée pour obtenir ce consentement doit être conforme aux lignes directrices locales et internationales relatives à la recherche sur des sujets humains (20). L'étude doit être expliquée en détail au malade ou à ses parents/tuteurs, y compris les bienfaits potentiels qu'on peut en attendre et les risques encourus. On trouvera à l'annexe 2 un exemple de texte recommandé pour le formulaire de consentement éclairé.

### 5.6 Traitement

Les malades qui satisfont à tous les critères de recrutement ne recevront un traitement qu'après avoir reçu toutes les explications nécessaires concernant l'étude et avoir donné volontairement leur consentement éclairé. Tout traitement antipaludique doit être administré par les membres de l'équipe d'étude sous observation au moyen des schémas thérapeutiques fixés pour le médicament évalué. Si l'on étudie plusieurs traitements, les malades satisfaisant à tous les critères de recrutement doivent être répartis au hasard dans les différents groupes de traitements. Bien que ce protocole ne soit pas destiné à servir d'essai clinique comparatif, une telle randomisation

est fortement conseillée. La randomisation sera réalisée au mieux et de la manière la plus susceptible d'éviter tout biais, en suivant rigoureusement une liste randomisée établie par ordinateur, même si d'autres méthodes ont été utilisées (par exemple le « pile ou face »).

On trouvera dans l'annexe 6 des schémas thérapeutiques correspondant à certains des antipaludiques actuellement étudiés. Les malades recrutés doivent rester en observation pendant au moins 30 minutes après le traitement pour veiller à ce qu'ils ne vomissent pas le médicament. En cas de vomissements survenant dans les 30 minutes suivant l'administration du traitement, il convient de renouveler la dose thérapeutique. Des traitements auxiliaires, par exemple par des antipyrétiques, peuvent être nécessaires et doivent être administrés aux malades par l'équipe de l'étude. Les malades qui présentent des vomissements persistants (nécessitant de renouveler la dose plusieurs fois) doivent être exclus de l'étude et immédiatement adressés au personnel de l'établissement de santé pour être pris en charge de manière appropriée.

Une fois les modalités de recrutement et de traitement achevées, il convient de donner aux malades le calendrier des visites de suivi systématique. Il est également important de veiller à ce que le malade (ou son parent, ou son tuteur) sache qu'en cas de récurrence des symptômes à un moment quelconque de la période de suivi, il ou elle doit immédiatement revenir voir l'équipe afin d'être réévalué, même si cela ne correspond pas à une visite de suivi programmée.

### 5.7 Durée de suivi recommandée

La durée de suivi recommandée est plus courte dans les régions où la transmission du paludisme est intense que dans celle où elle est faible à modérée. Dans les deux cas, il s'agit de périodes de suivi *minimales* –

les programmes qui sont en mesure de maintenir la qualité de l'étude sur une période d'évaluation prolongée, et qui ont accès aux techniques moléculaires que justifient des périodes de suivi plus longues, sont encouragés à le faire. On trouvera dans l'Encadré 3 une explication détaillée des principales questions en jeu lors du choix d'une durée appropriée de suivi pour ce protocole.

#### ***Régions de transmission intense***

La durée minimum recommandée pour le suivi est de 14 jours. Les études de plus longue durée dans ces régions doivent être accompagnées d'une évaluation moléculaire (amplification enzymatique (PCR)) pour permettre de distinguer une recrudescence d'une réinfestation. Se reporter à l'annexe 7 pour le papier-filtre servant au prélèvement et à la conservation des échantillons de sang pour les études sur les marqueurs moléculaires.

#### ***Régions où la transmission est faible à modérée***

La durée de suivi recommandée pour les évaluations effectuées dans les régions où la transmission est faible à modérée est de 28 jours. Cependant, dans certains cas, des évaluations de plus courte durée (14 jours au minimum) peuvent encore donner des résultats utiles et être employées. L'analyse moléculaire permettant de distinguer une recrudescence d'une réinfestation est vivement recommandée, mais pas absolument indispensable, pour les études d'une durée supérieure à 14 jours menées dans les régions de faible transmission.

Les recommandations de ce protocole visent à essayer de concilier les avantages de l'allongement du suivi avec les réalités pratiques liées à la conduite de ce suivi, surtout dans les régions de transmission intense du paludisme. Dans tous les cas, ces périodes doivent être considérées comme des périodes de suivi minimum recommandées ; si les programmes ont effectivement les moyens d'effectuer des

évaluations de qualité avec un suivi plus long, ils sont encouragés à le faire.

### **5.8 Calendrier de suivi**

Le calendrier de suivi de base est présenté sous forme de tableau à l'annexe 8. Le jour auquel le malade est recruté dans l'étude et reçoit sa première dose de médicament est traditionnellement appelé jour 0. Par la suite, le programme prévoit des réévaluations cliniques à effectuer aux jours 1, 2, 3 et 7, puis une fois par semaine pour le reste de la période de suivi (c'est-à-dire au jour 14 pour une période de 14 jours et aux jours 14, 21 et 28 pour une période de 28 jours). Il convient de toujours conseiller aux malades de revenir à ***n'importe quel*** moment de la période de suivi si des symptômes réapparaissent et de ne pas attendre le jour prévu pour la consultation. On peut trouver une série minimum d'indicateurs cliniques pour les évaluations de suivi dans l'exemple de dossier individuel présenté à l'annexe 5, mais les évaluations cliniques doivent être suffisamment complètes pour assurer la sécurité du malade et doivent comprendre non seulement la recherche d'un éventuel échec thérapeutique, mais aussi celle de réactions indésirables au traitement.

Des étalements de sang servant à la numération des plasmodies doivent être réalisés et examinés aux jours 2, 3, 7 et 14 (et 21 et 28 s'il y a lieu), ou n'importe quel jour si le malade revient spontanément. De plus, des étalements de sang doivent être réalisés chaque fois que le personnel clinique demande une réévaluation parasitologique pour des raisons liées à la sécurité du malade. Les malades de l'étude doivent être étroitement surveillés afin de réduire au minimum les risques. Le taux d'hémoglobine est habituellement réévalué au jour 14 (et 28 s'il y a lieu). Parce que beaucoup de médicaments doivent être administrés en plusieurs prises quotidiennes, les visites initiales sont essentielles non

### Encadré 3 : Durée du suivi après traitement

Le laps de temps nécessaire pour évaluer la réponse au traitement *in vivo* a récemment fait l'objet de discussions (21). L'expérience acquise dans un certain nombre d'études effectuées dans différents endroits a soulevé des questions et permis de faire des observations importantes en rapport avec ces discussions.

- Les études comportant un suivi plus court (c'est-à-dire < 14 jours) vont sous-estimer les taux d'échecs thérapeutiques généraux. C'est particulièrement vrai pour les médicaments qui ont des demi-vies d'élimination plus longues. La durée nécessaire pour éliminer complètement un médicament de l'organisme correspond à six fois sa demi-vie d'élimination (élimination =  $6 \times t_{1/2}$ ). L'élimination d'un médicament est le paramètre qui définit la durée du suivi dans les tests d'efficacité thérapeutique : pour la SP, avec une demi-vie approximative de 100 heures (4 jours) pour la sulfadoxine, l'élimination prendra  $6 \times 4 = 24$  jours ; le suivi doit donc être au minimum de 28 jours, si possible.
- Des périodes de suivi supérieures à 14 jours conviennent pour l'amodiaquine, la chloroquine et la SP (28 jours), pour l'association luméfántrine + artéméther (42 jours) et la méfloquine (63 jours), afin de permettre aux concentrations sanguines de médicament de chuter au-dessous du seuil thérapeutique minimum. Toute recrudescence des plasmodies avant que ce seuil n'ait été atteint serait due à une pharmacorésistance ; une recrudescence observée après que ce seuil a été atteint n'est pas nécessairement liée à une résistance (même des plasmodies sensibles peuvent à nouveau se multiplier si les concentrations sanguines du médicament sont infrathérapeutiques).
- Plus la durée du suivi après traitement est longue, plus les chances pour que la réapparition des plasmodies soit provoquée par une réinfestation et non par une recrudescence sont grandes. L'incapacité à distinguer une réinfestation d'une recrudescence peut conduire à une surestimation du taux d'échecs (si l'on suppose que toutes les réapparitions sont des recrudescences) ou à sa sous-estimation (si l'on suppose que toutes les réapparitions sont des réinfestations). Ce risque augmente avec l'intensité de la transmission (dans une région de transmission intense, on peut s'attendre à davantage de réinfestations entre 14 et 28 jours après le traitement que dans une région de transmission très faible, en partant du principe que le médicament n'a aucun effet prophylactique qui subsiste).
- Les techniques moléculaires peuvent permettre de distinguer une recrudescence d'une réinfestation. Cependant, elles ne sont pas infaillibles et nécessitent un matériel et une formation spécialisés qui vont bien au-delà des moyens habituels des programmes de lutte antipaludique. Le recours à ces tests devient indispensable lorsqu'on effectue des essais de longue durée dans des régions de transmission intense. Sans eux, tout bénéfice supplémentaire tiré de l'allongement de la durée du suivi risque d'être perdu du fait de l'incapacité à distinguer un échec thérapeutique véritable d'une réinfestation.
- Les évaluations de longue durée ont des conséquences logistiques et financières importantes qu'il ne faut pas prendre à la légère. Même les évaluations de courte durée sont sujettes à des annulations du fait des taux élevés d'abandons et de sujets perdus de vue (voir section 8). Allonger la durée du suivi exige un effort encore plus grand pour maintenir un taux suffisamment élevé d'achèvement du suivi, les taux d'abandons ayant tendance à augmenter avec l'allongement des périodes de suivi. Les coûts supplémentaires occasionnés par le maintien d'une équipe d'étude sur le terrain pendant des périodes de suivi plus longues, par le fait d'essayer de localiser les abandons dans la communauté et par les tests moléculaires appliqués aux échantillons doivent tous être pesés en regard de l'intérêt que présente cette information supplémentaire pour le processus de prise de décision au niveau du programme.
- Le but poursuivi par ce protocole est de recueillir des données afin d'aider à la prise de décision programmatique, et non d'effectuer des recherches sur la pharmacorésistance en elle-même. Même si la situation n'est peut-être pas idéale, l'expérience a montré que peu de pays ont modifié leur politique relative au traitement antipaludique de première intention au tout début de l'apparition d'une pharmacorésistance. Par conséquent, le bénéfice supplémentaire apporté par l'information engrangée du fait de l'allongement du suivi doit également être pesé en regard de la capacité du programme à prendre des mesures à partir de cette information.

seulement pour évaluer l'efficacité des médicaments, mais aussi pour la sécurité du patient ; à ce stade, ceux qui abandonnent le traitement n'auront pas reçu un traitement complet et peuvent être exposés à un risque. On s'efforcera de les retrouver afin qu'ils reçoivent un traitement complet. De la même façon, en dernier ressort, le succès de cette étude repose sur la capacité à réduire au minimum le nombre de sujets perdus de vue.

Si les malades peuvent être encouragés à revenir d'eux-mêmes pour les consultations de suivi prévues, il est indispensable que des dispositions soient prises à l'avance pour retrouver les malades chez eux s'ils ne se sont pas présentés. Pour cela, il faut, au cours du recrutement, obtenir des indications extrêmement précises sur la façon de se rendre à leur domicile, avoir des membres de l'équipe qui connaissent bien la communauté et qui peuvent être responsables des visites à domicile, et prévoir des moyens de transport. Le calendrier du traitement et des examens de suivi donné dans ce protocole doit être suivi scrupuleusement pour garantir l'intégrité des données. Les malades qui ne se présentent pas au jour 1 et au jour 2 et qui manquent une dose du traitement sont définitivement retirés de l'étude. Après le jour 3, les malades qui sont absents au jour 7, mais qui se présentent au jour 8 (même chose pour les jours 14/15, 21/22 et 28/29) peuvent rester dans le groupe d'étude. On ne peut autoriser un écart de plus d'un jour par rapport au protocole, à la fois pour la sécurité des malades et pour la pertinence des données.



**NOTE :** L'Encadré 2 traite de l'utilisation de l'élévation de la température corporelle mesurée objectivement et des situations dans lesquelles des antécédents de fièvre peuvent être acceptés.

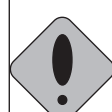
***Pendant toute l'évaluation, il convient d'utiliser le même indicateur de fièvre.***

Par exemple, les évaluations qui exigent que la **fièvre** soit **mesurée** pour le recrutement des patients doivent également exiger que la **fièvre** soit **mesurée** pour déterminer s'il faut ou non effectuer d'autres frottis sanguins et pour identifier les éventuels échecs thérapeutiques au cours du suivi (voir la section sur les définitions de la réponse au traitement).

Les évaluations effectués dans les régions qui ont choisi d'accepter d'avoir recours aux **antécédents de fièvre au cours des 24 heures précédentes** lors du recrutement doivent également utiliser ces **antécédents de fièvre au cours des 24 heures précédentes** pour déterminer à quel moment il faudra effectuer d'autres étalements de sang et pour identifier les éventuels échecs thérapeutiques. Les évaluations ne doivent pas faire appel à un indicateur de fièvre pour le recrutement et à un autre pour le suivi.

Il y a une exception importante à ce qui précède : dans la définition de l'échec thérapeutique précoce, il est obligatoire de **mesurer la fièvre** au jour 3 pour pouvoir classer la réponse au traitement dans les échecs, même si l'on utilise des antécédents de fièvre par ailleurs. La raison en est que la fièvre au jour 2 est un phénomène fréquent et que le fait de se baser sur **des antécédents de fièvre au cours des 24 heures précédentes** au jour 3 surestimerait le nombre d'échecs thérapeutiques précoces.

## 5.9 Traitement de secours



**NOTE :** Les indications d'un traitement de secours au cours d'un test d'efficacité thérapeutique seront différentes pour les évaluations conduites dans des régions où la transmission est faible à modérée de ce qu'elles seront pour celles effectuées dans des régions de transmission intense.

Ces différences sont le reflet de différences dans les priorités programmatiques des différentes régions. Traditionnellement, parce que l'immunité acquise des sujets exposés toute leur vie à une transmission intense du paludisme permet d'observer des échecs parasitologiques sans qu'il y ait d'échec clinique concomitant, les études effectuées dans ces régions *n'offrent* habituellement *pas* de traitement de secours en cas d'échec parasitologique asymptomatique ; le traitement de secours n'est administré qu'en cas d'échec clinique. Il y a une exception à cette règle, lorsqu'à la fin de la période de suivi on administre à tous les malades présentant une parasitémie un traitement de secours quel que soit leur état clinique. En revanche, les programmes des régions où la transmission du paludisme est faible à modérée ne distinguent habituellement pas les échecs parasitologiques des échecs cliniques (qui, à cause du faible degré d'immunité, sont observés fréquemment en même temps de toute manière), et les études effectuées dans ces régions offriront donc un traitement de secours en cas d'échec parasitologique asymptomatique et en cas d'échec clinique.

Si l'on effectue une évaluation dans une région de transmission intense et si l'on ne donne pas de traitement de secours aux patients présentant une parasitémie asymptomatique, il est important de les surveiller étroitement. Cela peut nécessiter de demander à un patient de revenir le lendemain, même s'il ne s'agit pas d'un jour de suivi programmé, voire de l'admettre en observation. A tout moment, un malade qui est considéré comme ne pouvant pas continuer à faire partie de l'évaluation du fait d'inquiétudes liées à sa sécurité peut être retiré de l'étude et rangé dans la catégorie des échecs. Si un patient présente une parasitémie au moment où la surveillance doit s'interrompre, il est recommandé de lui administrer un traitement de secours pour réduire au minimum le risque de réapparition d'un accès symptomatique chez un malade recruté dans l'étude.

Le « traitement de secours » est un traitement de seconde intention qui est administré à un malade de l'étude lorsqu'on a déterminé qu'il y avait eu échec thérapeutique (voir note ci-dessus). Le choix de ce traitement dépend du médicament évalué : l'idéal serait que le traitement de secours fasse appel à un médicament dont l'efficacité et l'innocuité sont établies en cas d'infestations résistantes au médicament testé et il peut s'agir ou non du traitement antipaludique de seconde intention officiellement recommandé dans le pays en question.

Les malades dont l'état clinique se détériore gravement au cours de l'étude doivent être immédiatement transférés pour recevoir des soins appropriés en milieu hospitalier. Cependant, la plupart des sujets d'étude ne devraient pas présenter un paludisme grave – en effet, l'étude a été conçue de façon à assurer une surveillance suffisamment étroite des malades pour pouvoir intervenir avant qu'une pathologie grave puisse se déclarer.

#### 5.10 Définition des critères de jugement de l'étude

Un critère de jugement est le point à partir duquel un malade ne sera plus suivi dans le cadre de l'étude. Les critères de jugement valables pour cette étude sont les suivantes : échec thérapeutique, fin de la période de suivi sans échec thérapeutique, sujet perdu de vue, sujet retiré de l'étude (volontairement ou involontairement) et violation du protocole.

- ***Echec thérapeutique et fin du suivi sans échec thérapeutique.***

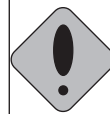
Pour les besoins de cette étude, l'efficacité thérapeutique sera défini lorsqu'un sujet recruté dans l'étude satisfait aux critères définissant l'une des trois catégories possibles d'échecs thérapeutiques ou aux critères du succès thérapeutique. On trouvera la description détaillée de ces derniers à la section 5.11.

- **Perdu de vue.** Un sujet est perdu de vue lorsque, en dépit de tous les efforts raisonnablement consentis, il ne peut être retrouvé. On peut par exemple ne pas retrouver un malade dans la communauté après qu'il ou elle ne s'est pas rendu à une visite de suivi prévue, ou a déménagé en dehors de la zone d'étude. La notion de perdu de vue n'est pas la même que celle de retrait volontaire de l'étude : le retrait volontaire laisse à penser qu'il s'agit d'une décision délibérée de ne plus participer à l'étude, tandis que le fait d'avoir perdu de vue un patient n'a peut-être rien à voir avec une décision particulière de ce dernier d'y participer ou non. En outre, il est encore possible de vérifier l'état de santé d'une personne qui se retire de l'étude, tandis que celui d'un patient perdu de vue est toujours mal connu.

- **Retrait de l'étude.** Sur le plan éthique, l'un des principes de base lorsqu'on a affaire à des sujets humains, est de les laisser toujours libres de mettre fin à tout moment à leur participation à l'étude. Un sujet inclus dans l'étude (ou le parent ou le tuteur d'un tel sujet) qui décide de ne plus participer à l'étude fait partie de ce que l'on appelle les retraits volontaires. L'apparition d'une maladie concomitante qui empêcherait de pouvoir interpréter clairement les résultats de l'étude constitue un exemple de cause de retrait involontaire. Il est recommandé de ranger les réinfestations identifiées par PCR dans la catégorie des retraits plutôt que dans celle des succès thérapeutiques, pour les raisons expliquées dans l'Encadré 4.

- **Violation du protocole.** Il y a violation du protocole lorsqu'un sujet d'étude est retiré de cette dernière à cause d'un événement qui ne permet pas une interprétation continue et précise de la réponse au traitement. Il peut s'agir par exemple d'un sujet qui a oublié de prendre une dose de traitement, chez qui l'on a décelé une infestation mixte au cours du suivi, ou dont on sait qu'il a pris d'autres antipaludiques en dehors du protocole de l'étude (automédication).

Dans tous les cas, il convient de consigner en détail les raisons pour lesquelles il y a eu des perdus de vue, des retraits et des violations du protocole. (Voir également la section 7 ci-dessous sur l'analyse et l'interprétation des données concernant la façon de gérer les perdus de vue, retraits et violations du protocole pendant l'analyse.)



**NOTE:** Le système de classification des réponses au traitement a été modifié dans ce protocole. Les modifications apportées visent à gommer les différences observées entre le protocole antérieur appliqué dans les régions de transmission intense et celui utilisé dans les régions où la transmission est faible à modérée. De plus, dans le système de classification utilisé antérieurement dans les zones de transmission intense, les échecs parasitologiques asymptomatiques n'étaient pas spécifiquement identifiés et rapportés. Ces modifications permettent d'effectuer une notification plus complète des échecs thérapeutiques.

### 5.11 Détermination des résultats de l'étude

Le système de classification des réponses au traitement a été modifié (voir annexe 9) et comprend désormais trois catégories pour les échecs thérapeutiques (*Echec Thérapeutique Précoce*, *Echec Clinique Tardif*, et *Echec Parasitologique Tardif*) et une pour les succès thérapeutiques (*Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate*). Les personnes qui connaissent bien l'ancien système de classification doivent examiner avec soin les définitions des nouvelles catégories, car des modifications subtiles, mais importantes, y ont été introduites. On trouvera ci-après une description de ces dernières :

- **Echec thérapeutique précoce.** Il n'y a désormais qu'une seule définition standardisée de l'*Echec Thérapeutique*

#### Encadré 4 : Classification des réinfestations mises en évidence par PCR

Il est recommandé, pour les études comportant des périodes de suivi des malades supérieures à 14 jours, d'utiliser des techniques moléculaires pour distinguer les recrudescences des réinfestations. Si la plupart de ces infestations sont peut-être en réalité des réinfestations, il y a deux situations qui rendent difficile leurs classifications de manière appropriée. Premièrement, les techniques habituelles de PCR employées à cette fin ne sont pas suffisamment sensibles pour détecter des populations de plasmodies marginales présentes au jour 0. Il est donc possible que les « nouvelles » plasmodies identifiées au cours du suivi ne représentent en réalité qu'une recrudescence d'éléments appartenant à une population marginale résistante présente dès le début, plutôt qu'une véritable réinfestation. Deuxièmement, une fois la réapparition des plasmodies mise en évidence, le malade devrait recevoir un traitement de secours (dans les régions de forte transmission, on ne l'administrera que si elle est accompagnée d'une fièvre ; dans les régions où la transmission est faible à modérée, il sera administré qu'il y ait ou non de la fièvre). L'administration d'un traitement supplémentaire à ce stade rendrait impossible toute interprétation du suivi pour ce malade et risquerait de « masquer » un véritable échec thérapeutique. En d'autres mots, la possibilité existe, même si elle est relativement faible, qu'une recrudescence se serait produite plus tard au cours du suivi chez un sujet présentant une réinfestation et traité en conséquence.

Dans les deux cas, la classification de toutes ces réinfestations dans les succès thérapeutiques conduirait à une sous-estimation des taux d'échec réels. Leur classification dans les échecs thérapeutiques conduirait à une surestimation de ces mêmes taux (et rendrait la PCR inutile). Pour plus de cohérence, il est donc recommandé de classer les réinfestations (ainsi que les cas où les résultats de la PCR sont ininterprétables) dans les retraits involontaires comme elles le seraient si le malade avait pris une automédication au cours du suivi : les incidences concernant le biais statistique sont essentiellement les mêmes dans les deux cas.

*Précoce* quelle que soit l'intensité de la transmission ; elle a été modifiée de façon à indiquer qu'il était absolument indispensable d'obtenir un étalement sanguin au jour 2. Auparavant, dans les régions de transmission intense, une goutte épaisse effectuée au jour 2 n'était nécessaire qu'en cas de fièvre. Cette modification a été apportée dans cette étude pour des raisons de sécurité : on a estimé qu'il était trop long d'attendre le jour 3 pour obtenir le premier étalement de suivi après traitement et que cela risquait de retarder l'administration du traitement de secours aux sujets présentant une parasitémie non réactive. Il est également absolument indispensable d'avoir une mesure de l'élévation de la température au jour 3 en présence d'une parasitémie pour

pouvoir ranger une réponse dans la catégorie des *Echecs Thérapeutiques Précoces* (des antécédents de fièvre au jour 3 en présence d'une parasitémie *n'est pas* un indicateur d'échec acceptable).

- *Echec clinique tardif*. Il n'y a qu'une définition de l'*Echec Clinique Tardif* quelle que soit l'intensité de la transmission. Cependant, des variations mineures existent du fait des différences observées dans les durées de suivi recommandées (14 jours dans les régions de transmission intense, 28 jours dans les régions où la transmission est faible à modérée). De plus, lorsque la transmission est faible à modérée et dans certaines conditions, il est autorisé le cas échéant de se servir des antécédents de

fièvre au cours des 24 heures précédentes, plutôt que d'une mesure précise de cette dernière (voir Encadré 2).

- ***Echec parasitologique tardif.*** Bien qu'il n'y ait qu'une seule définition de l'*Echec Parasitologique Tardif*, il existe des différences selon l'intensité de la transmission pour les mêmes raisons que celles indiquées précédemment. De plus, il s'agit d'une nouvelle catégorie pour les gens qui avaient l'habitude d'utiliser le protocole antérieur dans les régions de transmission intense. Auparavant, la parasitémie asymptomatique survenant après le jour 4 faisait partie de la catégorie *Réponse Clinique Adéquate*. Cependant, les données relatives

à la fréquence des échecs parasitologiques sont importantes pour bien comprendre l'efficacité d'un médicament et ne doivent pas être perdues.

- ***Réponse clinique et parasitologique adéquate.*** La définition d'une réponse adéquate au traitement différerait également en fonction de l'intensité de la transmission dans le protocole antérieur. La nouvelle définition de ce qu'est une réponse adéquate au traitement gomme ces différences et ne s'applique qu'aux réponses dans lesquelles on met en évidence une guérison clinique et parasitologique à la fin de la période de suivi.

## 6. CONSIDÉRATIONS D'ORDRE ÉTHIQUE

Les tests d'efficacité thérapeutiques doivent toujours être conduits sous la supervision directe d'un personnel médical qualifié. A tout moment, la sécurité et le bien-être des sujets doivent être garantis au maximum, et la prise en charge appropriée de chaque malade doit prendre le pas sur la conduite des tests.

Si ce protocole est principalement destiné à servir d'outil programmatique, l'étude doit quand même être effectuée comme s'il s'agissait d'une recherche. Dans presque toutes les situations envisageables, cela exigerait un examen éthique indépendant du protocole (surtout lorsque le médicament à l'étude n'est pas actuellement recommandé pour le traitement du paludisme dans le

pays en question). Il convient d'expliquer en détail les risques et les bienfaits attendus de cette étude aux malades que l'on envisage de recruter, grâce à un processus officiel visant à obtenir leur consentement éclairé, et leur participation ne doit en aucune façon être obtenue par la contrainte. L'investigateur doit mettre en place un système permettant d'assurer la confidentialité des données des patients.

De plus, toutes les méthodes employées doivent accorder la priorité à la santé et au bien-être du malade et non pas à la poursuite de l'évaluation. Les malades ont le droit de se retirer de l'étude à tout moment, quelle qu'en soit la raison, sans avoir à en craindre les conséquences.

## 7. GESTION ET ANALYSE DES DONNÉES

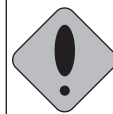
### 7.1 Gestion des données

On trouvera à l'annexe 5 des exemples de formulaires de recueil des données. Comme indiqué précédemment, les données figurant sur ces formulaires doivent être considérées comme les variables essentielles minimales à étudier : les programmes pourront recueillir des données supplémentaires utiles dans la situation particulière qui est la leur.

Le coordinateur principal de l'étude doit vérifier soigneusement tous les formulaires quotidiennement, non seulement pour s'assurer qu'ils sont bien remplis, mais aussi pour veiller à ce qu'ils le soient clairement, à ce que l'information recueillie ait un sens et surtout à ce que les sujets d'étude soient classés correctement et à ce que ceux qui ont besoin d'un traitement de secours l'aient reçu. Il faudra également veiller à ce que les échantillons soient correctement étiquetés et à ce que les résultats de laboratoire soient rapportés correctement et rapidement.

L'ordinateur simplifie grandement l'analyse des données, même si cela peut être fait « à la main ». Si on effectue une saisie informatique des données, il est vivement recommandé d'appliquer la validation à double entrée pour réduire au minimum les erreurs de transcription. Pour cela, on fait saisir les données dans deux fichiers différents par deux personnes différentes et on compare ensuite les deux fichiers. Toute différence observée laisse à penser qu'il y a eu des erreurs dans la saisie qui peuvent être corrigées en se reportant aux formulaires papier originaux.

### 7.2 Analyse des données



**NOTE :** La méthode recommandée pour l'analyse des données représente un changement important par rapport au protocole antérieur.

La méthode recommandée pour l'analyse des données obtenues à l'aide de ce protocole est l'analyse des courbes de survie. Il existe des programmes informatiques pour cette méthode d'analyse (par exemple, EpiInfo 2002, disponible gratuitement par [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov), ou les fiches d'analyse des données Excel, disponibles gratuitement auprès de [www.rbm.who.int](http://www.rbm.who.int)), mais son calcul à la main ne présente pas de difficulté (voir annexe 10).

Cette méthode d'analyse présente les avantages suivants : l'utilisation des données relatives aux malades qui ont été retirés de l'étude ou qui ont été perdus de vue, calcul aisé de la durée moyenne écoulée avant d'enregistrer un échec et calcul d'une estimation raisonnablement non biaisée des taux d'échec.

Pour obtenir des résultats qui soient comparables aux résultats antérieurs, il est également recommandé d'analyser les données au moyen de l'approche traditionnelle dite « per protocol » qui consiste à ne retenir pour l'analyse que les données des malades dont les résultats peuvent être évalués, c'est-à-dire ceux pour lesquels il y a des critères de jugement d'efficacité connues telles que l'*Echec Thérapeutique Précoce*, l'*Echec Clinique*

*Tardif, l'Échec Parasitologique Tardif, et la Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate* ; les données relatives à tous les autres patients sont exclues de l'analyse et n'entrent pas dans le dénominateur. Néanmoins, si l'on utilise cette méthode, le nombre de patients exclus de l'analyse – ainsi que les raisons de leur exclusion – doivent être consignés en détail.

On a également employé l'analyse selon l'intention de traiter, dans laquelle tous les malades affectés au hasard dans un groupe de traitement sont retenus dans l'analyse qu'il y ait ou non une issue pouvant être évaluée ; c'est-à-dire qu'ils figurent tous dans le dénominateur. Le but principal de cette analyse est de maintenir l'intégrité du processus de randomisation, ce qui est important pour les essais cliniques comparatifs randomisés ; mais ce protocole n'est pas essentiellement destiné à des essais comparatifs.

### 7.3 Utilisation des données pour la mise à jour de la politique de traitement

La bonne interprétation des données tirées de ce protocole a suscité bien des débats et tourne autour de la question simple de savoir quel est le degré d'échec thérapeutique au-delà duquel il n'est plus justifié de continuer à utiliser le médicament en question. S'il est tentant de définir un seuil d'échec par un simple chiffre au-dessus duquel l'échec thérapeutique est inacceptable, dans la pratique il n'y a pas de réponse simple à cette question – la réponse dépendra de nombreux facteurs propres à chaque situation. Par exemple, la tolérance à l'échec thérapeutique augmentera si les substances de remplacement possibles ne sont pas facilement accessibles au programme, sont trop coûteuses pour celui-ci, ou sont associées à des préoccupations graves sur le plan de l'innocuité.

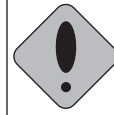
Dans les régions de transmission intense, les programmes ont toujours eu une

tolérance assez élevée vis-à-vis des échecs thérapeutiques, que traduit le fait qu'il y a relativement peu de pays d'Afrique subsaharienne qui aient changé leur politique de traitement malgré l'importance des échecs thérapeutiques enregistrés avec la chloroquine. En outre, ces mêmes programmes ont traditionnellement exclu l'étude des échecs parasitologiques asymptomatiques et n'ont réagi sur le plan programmatique qu'aux taux d'échecs cliniques (comme indiqué dans la conception et l'interprétation du protocole standardisé OMS de 1996 sur les tests *in vivo* dans les régions de transmission intense). Une telle approche s'explique par les effets de l'immunité acquise et la fréquence des parasitémies apparemment asymptomatiques. Mais cette approche va probablement changer au fur et à mesure que les informations s'accumulent concernant les effets sur la santé (et surtout les effets hématologiques) d'une parasitémie apparemment asymptomatique, que le recours à des interventions de prévention efficaces (par exemple les moustiquaires imprégnées d'insecticide) se répand, et que les mécanismes financiers évoluent pour rendre les traitements ayant une grande efficacité parasitologique programmatiquement viables.

A l'inverse, les programmes des régions où la transmission est faible ont de tout temps eu une très faible tolérance pour les échecs et ont traité de la même façon les échecs parasitologiques et les échecs cliniques (aidés en cela, sans aucun doute, par l'absence relative d'immunité acquise et la corrélation généralement forte observée entre l'échec parasitologique et l'échec clinique). Il y a eu plusieurs tentatives visant à définir de tels seuils, la plupart ayant trait au passage de la chloroquine à la SP (22-24). Kitua a simplifié ces premiers essais sous une forme très programmatique, donnant ainsi une règle empirique pour lancer le débat sur les politiques de traitement du paludisme dans un pays donné (25). Dans ce système (élaboré

avant tout pour les régions de transmission intense), on distingue quatre périodes conduisant à une modification des politiques pharmaceutiques : lorsque les taux d'échecs thérapeutiques se situent entre 0% et 4% (« période de grâce ») ; lorsqu'ils se situent entre 5% et 14% (« période d'alerte ») ; entre 15% et 24% (« période d'actio ») ; et enfin lorsqu'ils sont supérieurs ou égaux à 25% (« période de changement »). A cause de la période de battement nécessaire pour véritablement modifier les politiques de traitement (on a enregistré pour cela des périodes pouvant aller de 12 à 18 mois et même jusqu'à 10 ans), le processus de changement doit être amorcé avant qu'on ait atteint des taux d'échecs thérapeutiques élevés.

Enfin, il convient également de noter que de nombreux facteurs influent sur l'élaboration des politiques de traitement contre le paludisme, l'efficacité *in vivo* n'en constituant qu'un. De par leur nature, les études *in vivo* sont le reflet de l'utilisation des antipaludiques dans des conditions optimales, c'est-à-dire avec un diagnostic correctement posé suivi d'une posologie appropriée avec des médicaments de qualité administrés sous observation directe, garantissant ainsi l'observance. Dans la pratique, leur utilisation peut s'avérer tout à fait différente, de sorte qu'un médicament très efficace peut obtenir une très mauvaise efficacité programmatique. Les pratiques de traitements des dispensateurs de soins, l'observance par les malades des doses et calendriers recommandés, la disponibilité des médicaments, les effets indésirables (même des effets secondaires mineurs), l'innocuité dans les groupes à haut risque tels que les nourrissons et les femmes enceintes, et le coût représentent tous des facteurs importants dans la détermination du choix du meilleur médicament à utiliser pour le traitement antipaludique dans le cadre d'un programme.



**NOTE :** Au cours de la consultation informelle de l'OMS sur le but des politiques des traitements antipaludiques dans la région Afrique, tenue à Harare, Zimbabwe, du 14 au 15 août 2003, les experts sont parvenus à la conclusion que les parasitémies asymptomatiques persistantes après traitement sont associées à un risque accru d'épisodes cliniques, d'anémie et de portage de gamétocytes.

C'est pourquoi, les experts sont tombées d'accord que la réponse parasitologique devrait être un indicateur additionnel pour l'interprétation des tests d'efficacité thérapeutique. Avec les données du protocole standardisé de l'OMS, le seuil pour changer de politique de traitement dans les zones de transmission intense est maintenant le suivant : *Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate* < 75% (Echecs Totaux  $\geq$  25%) **et** *Réponse Clinique Adéquate* < 85% (Echecs Cliniques  $\geq$  15%).

La définition de la *Réponse Clinique Adequate* reste la même qu'en 1996. En utilisant la nouvelle classification, elle est égale à la somme des *Réponses Cliniques et Parasitologiques Adequates* plus les *Echecs Parasitologiques Tardifs*.

Les Echecs Totaux sont égaux à la somme des *Echecs Thérapeutiques Précoces*, des *Echecs Cliniques Tardifs* et des *Echecs Parasitologiques Tardifs*.

Les Echecs Cliniques sont égaux à la somme des *Echecs Thérapeutiques Précoces* et des *Echecs Cliniques Tardifs*.

#### 7.4 Présentation des résultats

La bonne présentation des résultats, qu'il s'agisse d'une utilisation programmatique ou d'une publication, revêt une importance capitale. Pour maximiser l'utilité des études et leur comparabilité d'un site à l'autre, ainsi que dans le temps, il est essentiel de se conformer dans le détail à ce protocole. L'interprétation, et la comparabilité ultérieure des résultats des études *in vivo* effectuées dans le passé, a souffert des innombrables modifications apportées au protocole. Dans un exemple extrême, on s'est aperçu que les études *in vivo* effectuées dans le même endroit au cours de la même période ont donné des résultats nettement différents, principalement à cause de modifications apportées au protocole « standardisé » par les enquêteurs. Des situations comme celle-ci ont engendré la confusion et, pire encore, ont fait que les décideurs n'ont pas tenu compte des résultats ou les ont ignorés.

Pour une bonne interprétation des résultats, il est indispensable que les méthodes

employées et les résultats obtenus soient correctement et complètement rapportés. En dépit des efforts consentis pour standardiser ces méthodes, il restera des différences entre les études effectuées dans les régions de transmission intense et celles menées dans des régions où la transmission est faible à modérée. De la même façon, il convient de rapporter quelle a été la méthode d'analyse précise (par exemple si les résultats sont le reflet d'une analyse des courbes de survie, d'une analyse « per protocol » ou d'une analyse selon l'intention de traiter). Les écarts par rapport à ce protocole sont vivement déconseillés ; toutefois, s'il doit y en avoir, il convient d'indiquer clairement leur nature exacte et leur raison d'être.

La présentation officielle doit également comprendre les résultats du contrôle de la qualité des données, surtout pour les examens des prélèvements sanguins, obtenus à l'aide des méthodes décrites à la section 8.

## 8. CONSIDÉRATIONS D'ORDRE TECHNIQUE ET CONTRÔLE DE QUALITÉ

### 8.1 Températures

Parce que les classifications des résultats reposent sur les températures corporelles mesurées (surtout dans les régions de forte transmission), les thermomètres et les techniques de prise de température du personnel clinique doivent être évalués. La qualité de la prise de température doit être assurée grâce à une formation correcte et à une supervision permanente. Toute température mesurée inférieure à 36,0 °C doit être reprise.

Avant l'évaluation, les thermomètres doivent être testés dans un bain-marie de température connue (c'est-à-dire mesurée à l'aide d'un thermomètre fiable, de préférence de la qualité de laboratoire, avant que les thermomètres de l'étude soient testés). Si c'est possible du point de vue logistique, on répétera l'opération pendant et à la fin de l'évaluation.

### 8.2 Poids corporels

Parce que la posologie est fonction du poids corporel, il est important de veiller à la fiabilité des balances utilisées dans l'étude. La précision de ces dernières sera vérifiée avant utilisation et au moins une fois pendant l'étude.

### 8.3 Etalements de sang

#### 8.3.1 Préparation du réactif

On trouvera à l'annexe 11 des détails de la préparation du réactif.

#### 8.3.2 Préparation et coloration des lames

La préparation et la coloration des lames se font suivant la méthode indiquée dans la Partie 1 de *Techniques de base pour le diagnostic microscopique du paludisme* (26). On préparera au moins une fois par jour une solution fraîche de colorant de Giemsa et, si possible, plus souvent en fonction du nombre de lames à colorer. On obtient les meilleurs résultats en trempant les lames pendant 45 à 60 minutes dans une solution de Giemsa à 2,5%–3%. On peut diminuer la durée nécessaire à la coloration en augmentant la concentration de la solution de Giemsa, mais la qualité de la coloration (et donc de l'examen microscopique) sera alors moins prévisible.

En général, il vaut mieux préparer deux lames par malade. La première peut être rapidement colorée (Giemsa à 10% pendant 10 à 15 minutes) pour un premier dépistage, tandis que l'on conserve la seconde. Si le malade est recruté dans l'étude, on peut alors colorer la seconde lame plus soigneusement (par exemple Giemsa à 2,5%–3% pendant 45–60 minutes). On utilisera également cette méthode de coloration moins rapide pour toutes les lames préparées à l'occasion des visites de suivi. Il est recommandé d'utiliser des lames ayant un bord dépoli sur lequel on peut inscrire la référence, ou des lames conventionnelles sur lesquelles on écrit au feutre indélébile.

#### 8.3.3 Examen et interprétation

- **Gouttes épaisses.** Les gouttes épaisses servant au dépistage initial doivent être examinées en comptant le nombre de formes asexuées et de leucocytes dans un nombre limité de champs microscopiques.

Pour que le malade soit recruté, il faut une parasitémie d'au moins une plasmodie pour 3 à 4 leucocytes, ce qui correspond approximativement à 2 000 formes asexuées par  $\mu\text{l}$ , pour les régions de forte transmission, et d'au moins une plasmodie pour 6 à 8 leucocytes, ce qui correspond approximativement à 1 000 formes asexuées par  $\mu\text{l}$  pour les zones de transmission faible à modérée.

- **Gouttes épaisses servant au recrutement et au suivi des malades.** La deuxième goutte épaisse doit servir à calculer la densité parasitaire observée chez les malades recrutés. Celles effectuées au cours du suivi seront examinées de la même manière.

La densité parasitaire se calcule en comptant le nombre de formes asexuées par rapport à un nombre fixé de leucocytes – habituellement 200 ou 300 – dans la goutte épaisse, à l'aide d'un compteur-enregistreur manuel. Une fois qu'on a commencé le comptage dans un champ, il faut le finir ; la numération finale des leucocytes sera donc rarement exactement égale à 200. Si l'on a compté plus de 500 plasmodies avant d'avoir atteint les 200 leucocytes, la numération peut être interrompue une fois la lecture du dernier champ achevée.

La densité parasitaire, exprimée en nombre de formes asexuées par microlitre ( $\mu\text{l}$ ), est calculée en divisant le nombre de formes asexuées par le nombre de leucocytes comptés, puis en multipliant par une densité leucocytaire hypothétique (qui est habituellement de 6 000 à 8 000 leucocytes/ $\mu\text{l}$ ).

La même technique doit être employée pour les numérations parasitaires effectuées lors de chacun des examens d'étalements de sang ultérieurs. On mesure la parasitémie en comptant le nombre de formes asexuées par rapport à un nombre de leucocytes déterminé dans la goutte épaisse. Lorsque le nombre des formes asexuées tombe au-dessous de 10 pour 200 leucocytes,

la numération doit se poursuivre jusqu'à au moins 500 leucocytes (c'est-à-dire jusqu'à avoir achevé le comptage dans le champ dans lequel on compte le 500<sup>e</sup> leucocyte).

Une goutte épaisse peut être considérée comme négative lorsque l'examen de 100 champs microscopiques ne montre pas la présence de formes asexuées. On notera la présence de gamétocytes dans l'une quelconque des lames préparées pour le recrutement ou lors du suivi, mais cette information ne sert pas à l'évaluation de base du test.

En outre, on examinera 100 champs microscopiques de la deuxième goutte épaisse afin d'exclure les infestations mixtes ; en cas de doute, on examinera un frottis pour confirmation. Si l'examen du frottis n'est pas concluant, le malade doit être exclu de l'étude après avoir reçu un traitement complet.

#### 8.3.4 Contrôle de qualité

Le contrôle de la qualité des examens microscopiques suppose de veiller à ce qu'on utilise une solution de Giemsa de bonne qualité, à ce que les méthodes de coloration soient conformes aux méthodes reconnues, à ce que les microscopes soient de la qualité voulue et bien entretenus, et à ce que les résultats de l'examen microscopique soient fiables.

- **Contrôle de qualité de la solution de Giemsa.** Pour veiller à ce qu'on obtienne les résultats voulus au niveau de la coloration, on joindra à chaque nouveau lot de solution de travail un frottis dont on sait qu'il est positif. Les lames témoins peuvent être préparées à partir du sang d'un malade et conservées pour une utilisation future.

**Méthode.** Chez un patient impaludé, effectuer un prélèvement de sang dans un tube à EDTA (acide éthylènediaminetétra-acétique). Le prélèvement de sang idéal montre au moins une plasmodie tous les 2 à 3 champs sur le frottis sanguin. Réaliser

autant de frottis que possible, de préférence dans l'heure qui suit le prélèvement de sang. Les sécher rapidement à température ambiante à l'aide d'un ventilateur ou d'un sèche-cheveux. Les fixer ensuite dans le méthanol absolu (100%) et les laisser sécher. Les disposer par deux, dos à dos, dans une boîte munie de rainures. Etiqueter la boîte à l'extérieur en indiquant l'espèce, la date et la mention « lames témoins du Giemsa ». Ces lames peuvent être conservées à température ambiante, mais dureront plus longtemps si elles sont conservées à une température égale ou inférieure à  $-70^{\circ}\text{C}$ . Juste avant utilisation, retirer la lame de la boîte et laisser la condensation s'évaporer ; inscrire sur la lame la date et la mention « témoin + ». On peut alors colorer le frottis et l'examiner pour vérifier que la solution de travail de Giemsa est de bonne qualité.

• **Contrôle de qualité de l'examen microscopique et de la numération.**

La méthode d'évaluation des résultats de l'examen microscopique doit privilégier la reproductibilité de la classification des réponses par rapport à la reproductibilité des numérations parasitaires précises : même deux techniciens expérimentés peuvent obtenir des numérations parasitaires très différentes, surtout lorsque les densités sont élevées. Pour les besoins de cette évaluation, des résultats discordants qui conduisent à modifier la classification de la réponse d'un malade donné sont plus importants que les résultats discordants pour des lames données qui ne modifient en rien la classification définitive.

**Méthode.** L'idéal serait que deux techniciens qualifiés examinent indépendamment l'ensemble des lames et qu'on calcule ensuite les densités parasitaires en faisant la moyenne des deux numérations. Les examens sanguins dont les résultats ne concordent pas (différences entre les deux techniciens pour ce qui est du diagnostic de l'espèce, ou différences dans la densité parasitaire de plus de 50%) seront

réexaminés par un troisième technicien indépendant, et la densité parasitaire sera calculée en faisant la moyenne des deux numérations les plus proches.

S'il est impossible de procéder ainsi, on choisira au hasard 10% des malades recrutés ou au minimum 10 malades choisis de manière aléatoire si ce dernier chiffre est le plus élevé, pour effectuer une nouvelle vérification. Le second technicien ne devra pas connaître le numéro du malade, le jour du suivi, les premiers résultats ni l'issue. Il devra réexaminer toutes les lames des malades choisis pour le contrôle de la qualité et fournir les résultats comme s'il les examinait pour la première fois (c'est-à-dire déterminer si elles sont négatives ou positives et, dans ce dernier cas, effectuer une numération parasitaire au moyen des méthodes standard). Une fois que toutes les lames ont été réexaminées, il convient de rassembler toutes les nouvelles données propres au patient et d'utiliser les résultats pour affecter le malade à une catégorie au moyen du système de classification recommandé. Le nouveau résultat doit être comparé à l'ancien et les écarts observés consignés. Si plus de 10% du sous-échantillon (soit 1 malade pour un sous-échantillon de 10 malades) n'ont pas des résultats concordants, tous les résultats de l'étude doivent être réexaminés.

#### 8.4 Evaluation hématologique

L'évaluation hématologique du malade doit être effectuée chaque fois que possible en mesurant l'hématocrite ou le taux d'hémoglobine. La mesure de l'hématocrite fait appel à du matériel spécialisé (centrifugeuse et tubes capillaires à microhématocrite) ; le taux d'hémoglobine est le plus facilement déterminé au moyen des spectrophotomètres portables disponibles dans le commerce, mais il existe également d'autres méthodes de dosage de laboratoire aussi simples.

Pour être valables, les comparaisons entre le jour 0 et le jour 14 demandent qu'on dispose des valeurs de l'hématocrite ou du taux d'hémoglobine déterminé quantitativement ; les méthodes semi-quantitatives, telle l'échelle colorimétrique de l'OMS, ne sont pas suffisamment précises pour être utilisées dans ces études.

Chez les personnes en bonne santé, l'hématocrite (exprimé sous forme de pourcentage) est grossièrement le triple du taux d'hémoglobine (exprimé en grammes par décilitre). Ce rapport est maintenu dans l'anémie normochrome, mais, dans la plupart des formes tropicales de l'anémie chronique, il est de 3,3 pour 1. Pour être recrutés dans l'étude, les patients doivent montrer un taux d'hémoglobine supérieur à 5,0 g/dl ou un hématocrite supérieur à 15%.

### 8.5 Qualité des médicaments

Les médicaments employés dans un test d'efficacité thérapeutique doivent être d'une qualité irréprochable. Malheureusement, l'expérience laisse à penser qu'il ne suffit pas d'acheter simplement les médicaments à tester auprès d'une source réputée pour en garantir la qualité, des antipaludiques de qualité médiocre ayant été identifiés auprès de nombreuses sources.

Dans la mesure du possible, les programmes devraient obtenir les médicaments à tester auprès de l'OMS ou d'autres sources de médicaments de qualité reconnues au plan international. Pour les médicaments qui ne peuvent être obtenus de cette façon, il est recommandé que ceux qui sont utilisés dans un test d'efficacité thérapeutique soient testés (contenu et dissolution) par un laboratoire pharmaceutique qualifié *avant* le début des études.

## 9. ÉVALUATION DE LA VALIDITÉ DE L'ÉTUDE

32

La validité d'une étude peut être compromise si une proportion élevée des patients recrutés sont retirés de l'analyse, s'il y a des violations trop fréquentes du protocole, ou s'il y a des erreurs cliniques ou de laboratoire fréquentes conduisant à une mauvaise classification des patients. Une responsabilité essentielle du coordinateur de l'étude est de rester vigilant quant à la qualité de tous les aspects de la collecte des données et de la conduite de l'étude. Les erreurs doivent être identifiées et corrigées rapidement pour réduire au minimum les efforts inutiles ou l'invalidation des résultats de l'étude.

En général, si au moins 20% des malades recrutés sont perdus de vue ou retirés à cause de violations du protocole, la validité de l'étude peut être remise en question. C'est particulièrement le cas si un pourcentage important de perdus de vue ou de retrait réduit également la taille de l'échantillon à une valeur inférieure au minimum calculé. Si ce dernier problème peut être résolu en recrutant davantage de malades qu'il n'est nécessaire pour tenir compte d'un taux d'abandon escompté, celui qui précède exige fréquemment qu'on parte à la recherche des malades dans la communauté s'ils ne reviennent pas se présenter aux visites de suivi, et qu'on fasse des efforts constants pour veiller à la qualité de la collecte des données.

Il est recommandé de garder au-dessous de 10% de la taille de l'échantillon total les erreurs de classification des malades. On ne peut éviter les erreurs cliniques qu'en formant suffisamment le personnel clinique avant le début de l'étude et en assurant une

supervision constante au cours de celle-ci. On évitera les erreurs de laboratoire en dotant ce dernier de techniciens qualifiés et chevronnés et en suivant les méthodes de contrôle de la qualité décrites plus haut.

Une cause fréquente d'erreur de classification des malades est la médiocrité de l'examen microscopique – en particulier les erreurs de numération des formes asexuées qui entraînent des erreurs dans le calcul de la densité parasitaire. L'essentiel des erreurs commises lors de l'examen microscopique sont des erreurs d'identification de l'espèce plasmodiale et le fait de passer à côté d'infestations mixtes lors du recrutement. L'exactitude des numérations parasitaires est essentielle tout au long de l'étude : un dénombrement inexact au jour 0 peut conduire à une augmentation des violations du protocole (par exemple en recrutant des malades ayant trop peu de plasmodies) ou à une perte d'efficacité du recrutement (par exemple en excluant des malades ayant un nombre suffisant de plasmodies). Des erreurs de classification des malades peuvent se produire lorsque les numérations parasitaires sont inexactes au jour 0 et/ou au jour 3 (lorsqu'on doit comparer les nombres absolus de plasmodies pour déterminer si un nombre  $\geq 25\%$  du nombre enregistré au jour 0 subsiste au jour 3) ou au cours du suivi.

Après avoir examiné la qualité des lames au moyen des méthodes décrites plus haut, tous les résultats des malades doivent être reclassés en prenant les résultats corrigés. Si au moins 10% des malades ont changé de catégorie, l'étude doit être invalidée.

## 10. DÉTERMINATION DE L'INTENSITÉ DE LA TRANSMISSION DU PALUDISME

Le développement de l'immunité clinique dépend en grande partie de la fréquence de l'exposition aux plasmodies depuis la naissance. Dans les régions où l'intensité de la transmission est élevée et stable, l'immunité clinique s'acquiert précocement, souvent bien avant le 5<sup>e</sup> anniversaire de l'enfant. Au fur et à mesure que cette intensité diminue pour devenir très faible et instable, les accès palustres cliniques peuvent être aussi fréquents chez les jeunes enfants que chez les enfants plus âgés et les adultes du fait que les populations n'acquièrent pas une immunité clinique efficace. Dans ces conditions, la fréquence générale de la maladie pour un groupe d'âge est généralement faible.

Dans la majeure partie de l'Afrique subsaharienne, il y a une transmission intense de *P. falciparum*, l'immunité clinique s'acquiert au début de la vie et la plus grande morbidité concerne les nourrissons et les jeunes enfants. Cependant, les conditions climatiques et écologiques qui règnent dans certaines régions du continent favorisent exceptionnellement une transmission de faible intensité, avec une tendance à des épidémies périodiques ; ces régions sont généralement des régions d'altitude élevée, situées dans des zones arides ou urbaines.

Pour les besoins pratiques du test de sensibilité aux médicaments, il est important de distinguer les régions où règnent des conditions qui font que l'immunité clinique s'acquiert lentement (régions de transmission faible à modérée) de celles où l'immunité est relativement rapidement acquise (régions de forte transmission). Dans les premières, le recrutement des malades pour une étude d'efficacité thérapeutique doit être le reflet de l'écologie locale de la maladie et porter à la fois sur les enfants et les adultes (mais même dans ces endroits, les enfants de moins

de 5 ans puissent être exposés à un risque plus élevé pour d'autres raisons et doivent théoriquement être encore au centre de l'étude). Dans les régions de forte transmission, les tests d'efficacité thérapeutique seront concentrés sur les enfants de moins de 5 ans.

En général, les régions où l'intensité de la transmission de *P. falciparum* est faible seront celles qui entrent dans les définitions classiques du paludisme instable et de l'hypoendémie stable. On peut décrire ces situations épidémiologiques de différentes façons, au moyen d'une estimation de paramètres complexes par le biais d'études entomologiques (27). De telles approches vont souvent bien au-delà du champ d'action des équipes qui étudient la pharmacosensibilité. Pour des raisons pratiques, les enquêteurs doivent chercher à distinguer les endroits où le paludisme est instable comme suit :

- **En consultant les données existantes.**

Une base de données contenant les résultats d'enquêtes parasitologiques et entomologiques exhaustives entreprises sur tout le continent a été créée par le projet concerté de Atlas du Risque de la Malaria en Afrique (ARMA). On peut rechercher ces données à l'adresse suivante : [www.mara.org.za](http://www.mara.org.za). Toutes les régions où la prévalence de l'infestation chez les enfants de moins de 10 ans est  $\leq$  à 10% peuvent être considérées comme étant des régions d'hypoendémie, de faible intensité, ou potentiellement instables. En outre, ARMA a mis au point une série de cartes de modélisation du risque de paludisme qui peuvent être consultées sur le même site Web. Les cartes par pays montrent les régions géographiques qui, en fonction des déterminants climatiques, sont peu susceptibles d'abriter une endémie stable. Pour parler plus généralement, les régions qui ont une valeur de « fuzzy logic »

inférieure à 0,25 (voir le site Web pour de plus amples informations sur la modélisation de « fuzzy logic ») sont peu susceptibles d'être des régions d'endémie stable du paludisme et peuvent être considérées comme potentiellement instables (28). Les modèles climatiques ne donnent pas de bonnes prévisions concernant la transmission du paludisme en milieu urbain, car celle-ci est souvent moins élevée dans la réalité que dans les modèles. Il convient de consulter également d'autres bases de données nationales ; pour le Kenya, par exemple, on peut trouver des archives nationales à l'adresse suivante : [www.kmis.org](http://www.kmis.org).

• **Estimation empirique des risques d'infestation palustre.** Les enquêtes sur l'endémie du paludisme les plus simples et les plus fréquemment menées sont les enquêtes transversales de prévalence de l'infestation. En fonction des ressources disponibles, ces enquêtes peuvent être effectuées chez des enfants choisis au hasard (âge compris entre 2 et 9 ans) qui résident dans la communauté entourant le dispensaire, ou chez les nourrissons (âge compris entre 3 et 11 mois) vus en consultation pour les vaccinations systématiques ou la surveillance de leur croissance. Ces derniers donneront une estimation inférieure de la prévalence de l'infestation par rapport à des enfants plus âgés, mais contrairement à ceux-ci, pourraient surestimer les risques d'infestation si la consultation est associée à une maladie. Pour identifier les régions où la prévalence de l'infestation est de 10%, un échantillon de 200 enfants permettrait d'obtenir un intervalle de 6%–14% avec un niveau de confiance à 95%. Des gouttes épaisses et des frottis sanguins seraient réalisés à partir de prélèvements effectués par ponction digitale après consentement éclairé des parents ou des tuteurs habituels des enfants. Les lames seraient examinées comme indiqué précédemment dans ce protocole. L'indice splénique a également été utilisé comme marqueur indirect de l'endémie palustre. On trouvera à l'annexe 12 la définition du paludisme hypoendémique,

mésioendémique, hyperendémique et holoendémique par rapport à l'indice splénique et à l'indice plasmodique. Toutefois, ces marqueurs ne peuvent être considérés comme des indices fiables puisque l'un comme l'autre sont arbitraires et ne rendent pas bien compte de la nature saisonnière de la transmission (27).

• **Répartition par âge des cas cliniques.**

Une mesure approximative de la stabilité de la transmission peut être directement tirée d'un examen des données relatives aux cas cliniques au dispensaire. En faisant la somme du nombre de cas de paludisme chez l'adulte (âge  $\geq 15$  ans) et du nombre de cas chez les moins de 15 ans pendant toute une année ou toute une saison de transmission, on peut calculer le rapport adulte/enfant. Un rapport  $\geq 1$ , c'est-à-dire un nombre équivalent ou plus grand de cas chez l'adulte que chez l'enfant, laisserait à penser que l'on est en présence d'un développement lent de l'immunité clinique dans la communauté et donc d'une transmission faible. Une telle description clinique repose sur un certain nombre d'hypothèses :

- la communauté que dessert le dispensaire est caractéristique de nombreuses populations rurales des pays en développement, avec près de la moitié de la population âgée de moins de 15 ans ;
- il n'y a pas de biais lié à l'âge dans la fréquentation du dispensaire ; et
- le diagnostic clinique est de bonne qualité et comprend l'examen microscopique d'étalements de sang.

Cette dernière hypothèse est importante parce que beaucoup de dossiers dans les dispensaires ont trait à des diagnostics présomptifs de paludisme, qui peuvent être totalement différents des cas cliniques véritables, confirmés parasitologiquement. Lorsque les enquêteurs estiment que les définitions de cas sont inappropriées pour un examen rétrospectif, ils peuvent effectuer une évaluation prospective limitée des cas de paludisme clinique chez les enfants et les adultes avec des outils diagnostiques améliorés.

# 11. RECOMMANDATIONS RELATIVES À LA CRÉATION D'UN SYSTÈME DE SURVEILLANCE DE L'EFFICACITÉ DES MÉDICAMENTS PAR DES SITES SENTINELLES

L'objectif prioritaire de ce protocole est de fournir des données factuelles pour éclairer l'élaboration de lignes directrices et/ou de politiques relatives au traitement du paludisme non compliqué. Dans la pratique, la plupart des pays ont élaboré et mis en oeuvre une seule politique, uniformément appliquée à l'ensemble du pays. Dans quelques-uns, les directives de traitement sont plus étroitement adaptées à la situation locale, il peut y avoir deux ou plusieurs politiques différentes, applicables dans les différentes régions géographiques du pays. Dans chaque cas, il est nécessaire de disposer de données relatives à l'efficacité des médicaments qui soient fiables et à jour.

L'idéal serait que les politiques et/ou lignes directrices relatives au traitement anti-paludique soient élaborées, réexaminées régulièrement et mises à jour le cas échéant, sur la base des données générales obtenues à partir des études effectuées à l'aide de ce protocole standardisé. Dans la mesure du possible, les lignes directrices relatives au traitement doivent également être le reflet des caractéristiques locales de la résistance, de façon à veiller à ce qu'un traitement efficace soit fourni à la plus grande proportion possible de la population.

Pour accomplir le double objectif d'une collecte des données continue et en temps voulu, et de leur pertinence locale, il faut créer un système de surveillance de l'efficacité des antipaludiques par des sites sentinelles. Si aucun avis scientifique définitif ne peut être donné concernant le nombre de sites nécessaires, l'expérience laisse à penser qu'un équilibre entre représentativité et faisabilité peut être

obtenu avec quatre à huit sites. Les programmes devront accroître ou diminuer ce nombre en fonction des besoins pour tenir compte de la taille du pays, de la répartition de la population et de sa densité, des différentes épidémiologies ou écologies du paludisme et autres facteurs considérés comme importants. Lorsqu'on prend ce type de décision, il faut mettre l'accent sur la nécessité d'avoir un nombre de sites « gérable » afin de garantir une surveillance et une supervision dans de bonnes conditions.

L'expérience accumulée plus que des recherches scientifiques précises permet de recommander que ces évaluations soient effectuées au moins tous les deux ans ; pour être comparables, il faut qu'elles soient toujours effectuées à la même période de l'année. La plupart des programmes qui effectuent une surveillance par des sites sentinelles trouvent plus facile d'effectuer une alternance entre les sites, en testant par exemple quatre sites par an, chacun d'entre eux étant évalué une année sur deux.

La surveillance de l'efficacité thérapeutique doit être effectuée au moyen d'un système de sites sentinelles choisis avec soin, de façon à obtenir des données longitudinales homogènes et à documenter les tendances. Au début, un groupe central d'experts (appartenant au programme national de lutte antipaludique, au ministère de la santé, aux universités, aux instituts de recherche ou au laboratoire de référence national) doit être mis en place pour coordonner toutes les activités – formation, supervision, collecte et analyse des données – et faire suivre les recommandations aux responsables de l'élaboration des politiques

nationales. Ce groupe central doit veiller à la qualité du diagnostic de laboratoire dans les sites sentinelles et fournir un soutien logistique permanent.

Les exigences minimales pour décréter qu'un site est sentinelle sont les suivantes : disponibilité d'un personnel clinique et de techniciens en microscopie qualifiés et motivés, plus un laboratoire équipé pour l'examen des étalements de sang. Le site sentinelle peut être situé dans un établissement périphérique (les véritables études en communauté sont difficiles à réaliser sur le plan logistique et coûteuses) ou basé dans un établissement de santé de district. Les malades qui recherchent des soins dans les hôpitaux en milieu urbain peuvent présenter des tableaux cliniques plus complexes, sont davantage susceptibles d'avoir été adressés dans ces services à cause d'échecs thérapeutiques antérieurs, et/ou sont peut-être plus difficiles à retrouver au cours du suivi. C'est pourquoi la surveillance de l'efficacité doit être effectuée dans des sites les plus périphériques possibles.

Les caractéristiques suivantes doivent être étudiées dans le choix des sites sentinelles :

- densité de la population locale ;
- accessibilité du site et faisabilité d'une supervision étroite ;
- épidémiologie du paludisme, notamment intensité et caractère saisonnier de la transmission ;
- mobilité de la population et migration (surtout dans les zones frontalières) ;
- échecs thérapeutiques rapportés par le système d'information sanitaire (certaines régions du pays peuvent être suspectées d'avoir des taux d'échec thérapeutique plus élevés ou être connues pour cela).

Les sites sentinelles doivent être choisis de façon à être représentatifs de chacune des grandes strates épidémiologiques dans lesquelles le pays peut être divisé. La surveillance peut être effectuée soit par

du personnel local du site sentinelle, soit par une équipe mobile plus spécialisée. Le choix variera en fonction des ressources nationales et de la disponibilité du personnel qualifié dans les sites sentinelles choisis.

Étant donné l'importance du secteur privé dans l'achat et la distribution des médicaments dans bon nombre de pays, et vu l'hétérogénéité de la pharmacorésistance, les études sur l'utilisation des médicaments et la qualité de ces derniers doivent être effectuées, dans la mesure du possible, dans les régions choisies pour la surveillance à partir de sites sentinelles. Il est probable que les résultats ne seront pas uniformes d'un site à l'autre ; certains sites pourront faire apparaître une détérioration non négligeable de l'efficacité du traitement, tandis que d'autres continueront à enregistrer une réponse acceptable avec le même médicament. Le programme doit étudier les questions qui sont associées à cette possibilité et élaborer un plan de riposte.

**Par exemple:**

- Peut-on cibler des lignes directrices précises relatives au traitement sur les régions touchées sans modifier l'ensemble des politiques ou lignes directrices nationales ?
- Combien de sites doivent montrer des échecs thérapeutiques inacceptables avant qu'on modifie une politique ou des lignes directrices nationales relatives au traitement ?
- Que se passe-t-il lorsqu'un site du système montre un taux de succès thérapeutiques médiocre avec le médicament de première intention existant, mais que les politiques ou lignes directrices nationales relatives au traitement ne sont pas modifiées parce que son efficacité est plus élevée dans d'autres sites ? A quel moment est-ce qu'il n'est plus éthique de poursuivre l'évaluation de ce médicament dans ce site ? A quel pourcentage d'échecs thérapeutiques cela se produirait-il ? Quelles sont les répercussions sur le traitement systématique des malades à ce moment-là ?

# Références

1. Harinasuta T, Suntharasamai P, Viravan C. Chloroquine-resistant falciparum malaria in Thailand. *Lancet*, 1965, 2:657–660.
2. Moore DV, Lanier JE. Observation on two *Plasmodium falciparum* infections with an abnormal response to chloroquine. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1961, 10:5–9.
3. *Resistance of malaria parasites to drugs. Report of a WHO Scientific Group*. Geneva, World Health Organization, 1965 (WHO Technical Report Series, No. 296).
4. *Chemotherapy of malaria. Report of a WHO Scientific Group*. Geneva, World Health Organization, 1967 (WHO Technical Report Series, No. 375).
5. *Chemotherapy of malaria and resistance to antimalarials. Report of a WHO Scientific Group*. Geneva, World Health Organization, 1973 (WHO Technical Report Series, No. 529).
6. Brandling-Bennett AD et al. Chloroquine treatment of falciparum malaria in an area of Kenya of intermediate chloroquine resistance. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1988, 82:833–837.
7. White NJ, Krishna S. Treatment of malaria: some considerations and limitations of the current methods of assessment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1989, 83:767–777.
8. Bloland PB et al. Chloroquine in Africa: critical assessment and recommendations for monitoring and evaluating chloroquine therapy efficacy in sub-Saharan Africa. *Tropical Medicine and International Health*, 1998, 3:543–552.
9. *Antimalarial Drug Policies: data requirements, treatment of uncomplicated malaria and management of malaria in pregnancy. Report of an Informal Consultation*. Geneva, World Health Organization, 1994 (document WHO/MAL/94.1070).
10. *Assessment of therapeutic efficacy of antimalarial drugs for uncomplicated falciparum malaria in areas with intense transmission*. Geneva, World Health Organization, 1996 (document WHO/MAL/96.1077).
11. *Evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos para el tratamiento del paludismo por Plasmodium falciparum sin complicaciones en las Américas*. Washington, Organización Mundial de la Salud, 1998 (document OPS/HCP/HCT/113/98).
12. *Informal consultation on monitoring resistance to antimalarial drugs in the Mekong Region*. Manila, World Health Organization, 2001 (document (WP)MVP/ICP/MVP/022-E).
13. *Monitoring antimalarial drug resistance. Report of a WHO consultation*. Geneva, World Health Organization, 2002 (document WHO/CDS/CSR/EPH/2002.17-WHO/CDS/RBM/2002.39).

14. Nosten F et al. Effects of artesunate-mefloquine combination on incidence of *Plasmodium falciparum* malaria and mefloquine resistance in western Thailand: a prospective study. *Lancet*, 2000, 356:297–302.
15. Shretta R et al. Using evidence to change antimalarial drug policy in Kenya. *Tropical Medicine and International Health*, 2000, 5:755–764.
16. *A decade of progress in malaria policy and programme development in Malawi: 1984–1993*. Atlanta, United States Agency for International Development and US Department of Health and Human Services, 1995.
17. East African Network for Monitoring Antimalarial Treatment (EANMAT). Monitoring antimalarial drug resistance within National Malaria Control Programmes: the EANMAT experience. *Tropical Medicine and International Health*, 2001, 6:891–889.
18. *Management of severe malnutrition: a manual for physicians and other senior health workers*. Geneva, World Health Organization, 1999.
19. World Health Organization. Severe falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2000, 94(Suppl. 1):1–90.
20. Workbook for clinical monitoring. Geneva, UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, 2001.
21. White NJ. The assessment of antimalarial drug efficacy. *Trends in Parasitology*, 2002, 18:458–464.
22. Bloland PB et al. Beyond chloroquine: implications of drug resistance for evaluating malaria therapy efficacy and treatment policy in Africa. *Journal of Infectious Diseases*, 1993, 167:932–937.
23. Schapira A, Beales PF, Halloran ME. Malaria: living with drug resistance. *Parasitology Today*, 1993, 9:168–174.
24. Phillips M, Phillips-Howard PA. Economic implications of resistance to antimalarial drugs. *Pharmacoeconomics*, 1996, 10:225–238.
25. Kitua AY. Antimalarial drug policy: making systematic change. *Lancet*, 1999, 354 Suppl:SIV32.
26. *Basic malaria microscopy, Part I & II*. Geneva, World Health Organization, 1991.
27. Snow RW, Gilles HM (2002). The epidemiology of malaria. In DA Warrell, HM Gilles, eds. *Bruce Chwatt's Essential Malariology*, 4th ed. London, Arnold, 2002: 85–106.
28. Craig MH, Snow RW, le Sueur D. African climatic model of malaria transmission based on monthly rainfall and temperature. *Parasitology Today*, 1999, 15:105–111.

# Annexes

1. Définition du paludisme grave	40
2. Prise de décision éclairée	41
3. Détection des antipaludiques dans les urines	43
4. Taille minimum de l'échantillon	46
5. Exemples de dossiers individuels	47
6. Traitements	50
7. Papier filtre servant au prélèvement et à la conservation des échantillons pour les études sur les marqueurs moléculaires	53
8. Calendrier de suivi de base	54
9. Classification des réponses au traitement	56
10. Calcul à la main des courbes de Kaplan-Meier	57
11. Préparation des réactifs	58
12. Classification de l'endémie palustre	59
13. Matériel standard nécessaire pour le test d'efficacité thérapeutique	60
14. Exemple de table des matières d'un protocole	62

# Annexe 1

## Définition du paludisme grave<sup>1</sup>

40

Manifestations graves du paludisme à *P. falciparum* chez l'adulte et l'enfant

Valeur pronostique <sup>a</sup>			Fréquence <sup>a</sup>	
Enfants	Adultes		Enfants	Adultes
<b>Manifestations cliniques</b>				
+	(?) <sup>b</sup>	Prostration	+++	+++
+++	+	Troubles de la conscience	+++	++
+++	+++	Détresse respiratoire (acidose respiratoire)	+++	+
+	++	Crises convulsives	+++	+
+++	+++	Collapsus circulatoire	+	+
+++	+++	Oedème pulmonaire (radiologique)	+/-	+
+++	++	Saignement anormal	+/-	+
++	+	Ictère (jaunisse)	+	+++
+	+	Hémoglobinurie	+/-	+
<b>Résultats de laboratoire</b>				
+	+	Anémie sévère	+++	+
+++	+++	Hypoglycémie	+++	++
+++	+++	Acidose	+++	++
+++	+++	Hyperlactatémie	+++	++
+/-	++	Hyperparasitémie	++	+
++	++	Insuffisance rénale	+	+++

<sup>a</sup> Sur une échelle allant de + à +++; +/- indique une manifestation peu fréquente.

<sup>b</sup> Données non disponibles.

<sup>1</sup> Organisation mondiale de la Santé. Severe falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2000, 94(Suppl. 1):1-90.

# Annexe 2

## Prise de décision éclairée

*Recommandations formulées par le Comité du Secrétariat pour la recherche impliquant la participation de sujets humains (SCRIHS) de l'Organisation mondiale de la Santé (octobre 2003).*

41

Le formulaire de consentement comporte deux parties : *a*) une **déclaration** exposant l'étude et la nature de la participation du sujet, et *b*) un **certificat de consentement** témoignant du consentement du sujet. Ces deux parties doivent être rédigées en caractères suffisamment gros et dans un langage simple de façon que le sujet puisse facilement en lire et en comprendre le contenu. Dans la mesure du possible, on évitera toute terminologie médicale dans la rédaction du formulaire de consentement. Ce dernier doit être rédigé dans la langue maternelle des sujets potentiels.

La déclaration est communiquée ou lue à chaque sujet potentiel. Il est ensuite répondu à toutes les questions que le sujet pourrait se poser et, si le consentement est donné, le certificat est signé par le sujet ou, s'il s'agit d'un consentement verbal, par le membre du personnel qui a fourni l'information en présence d'un témoin indépendant sachant lire et écrire ; le membre du personnel doit veiller à ce que toute l'information en rapport avec l'étude soit comprise. En signant, il confirme que le consentement a été donné librement. Il faut obtenir de cette façon un certificat signé pour chaque sujet recruté dans l'étude et lui en donner un double.

Lors de la rédaction de la **déclaration**, tenir compte des points suivants :

- Expliquer pourquoi cette étude est effectuée et pourquoi on a demandé au sujet d'y participer.
- Indiquer, dans l'ordre, ce qui va se passer au cours de l'étude, en donnant suffisamment de précisions pour que le sujet ait une idée claire de ce à quoi il peut s'attendre.
- Expliquer dans quelle mesure les modalités de l'étude vont ou non présenter des avantages pour le sujet ou d'autres personnes.
- Expliquer la nature, les chances de survenue et les modalités de traitement des désagréments ou des effets indésirables potentiels, y compris les risques psychologiques et sociaux, s'il y a lieu. Le cas échéant, ajouter une comparaison avec les risques que font courir les traitements ou les médicaments standard, et indiquer si le médicament ou la méthodologie qui est évaluée comporte des risques comparables, plus élevés, ou moins élevés que le médicament standard. Si les risques ne sont pas connus ou s'il n'y a pas de comparaison possible, il convient de l'indiquer.
- Expliquer ce qu'on va faire des échantillons biologiques « excédentaires » qui seront prélevés dans le cadre du protocole de recherche – dans quel délai à la suite de celle-ci seront-ils éliminés ou détruits, ou pendant combien de temps seront-ils conservés, de quelle manière, et qui aura accès à ces échantillons, selon quelle modalité. Qui aura la responsabilité de finalement détruire ou jeter ces échantillons ?

- Indiquer que tous les dossiers doivent bénéficier de la clause de confidentialité. Si une confidentialité absolue ne peut être garantie, expliquer pourquoi. Expliquer dans quelle mesure la confidentialité des informations propres au sujet sera protégée au cours de l'étude et dans toute communication publique qui en résulterait lors de réunions ou à l'occasion de publications. Indiquer également quelles sont les autres personnes en dehors des chercheurs qui auront accès aux dossiers et/ou à qui ces informations peuvent être communiquées. Indiquer où et sous quelle forme les informations propres au sujet seront conservées, et quand, comment, et par qui elles seront détruites.
- Indiquer que le sujet a le droit de refuser de participer ou de se retirer de l'étude à tout moment sans que cela ait une incidence quelconque sur les soins qu'il reçoit actuellement ou qu'il recevra dans le futur. Indiquer quel autre traitement ou méthode serait disponible pour les personnes qui choisissent de ne pas participer à l'étude.
- *Renseignements concernant la personne à contacter.* Sur le formulaire figureront le nom, l'adresse et le numéro de téléphone de la personne que les sujets peuvent contacter s'ils ont des questions à propos de l'étude ou rencontrent des problèmes pendant celle-ci. Il doit s'agir de personnes présentes sur place, intimement impliquées dans le projet de recherche et facilement joignables par les participants et non pas de présidents de comités d'éthique ou de doyens d'écoles et de chefs de départements.
- Le **certificat de consentement**, qui doit faire partie de la feuille d'information, doit commencer par un bref résumé des principaux points abordés dans la déclaration qui précède. Il doit se terminer par un paragraphe du type de celui qui suit :

*J'ai lu les informations qui précèdent, ou elles m'ont été lues. J'ai eu l'occasion de poser des questions à leur sujet et il a été répondu de façon satisfaisante à toutes les questions que j'ai posées. Je consens librement à participer en tant que sujet à cette étude et comprends que j'ai le droit de me retirer de l'étude à tout moment sans que cela modifie en aucune façon les soins médicaux que je recevrai.*

Le formulaire de consentement éclairé doit être signé par le sujet ou, s'il est illettré, par un témoin indépendant (sachant lire et écrire, de préférence) qui donne les informations, vérifie qu'elles ont été comprises et confirme que le consentement a été donné librement. Dans la mesure du possible, ce témoin doit être choisi par le sujet et il/elle ne doit avoir aucun lien avec l'équipe de recherche. Lorsque c'est faisable, le recrutement de sujets illettrés doit avoir lieu en présence d'un témoin sachant lire et écrire.

- *Déclaration de consentement autorisant la conservation et l'utilisation future des échantillons restants et signatures.* Si le protocole prévoit la conservation et l'utilisation future des échantillons, le formulaire de consentement doit offrir la possibilité d'une destruction immédiate ou d'une conservation et d'une utilisation des échantillons pour des recherches futures sur le même sujet ou pour des recherches futures d'un autre ordre. Cette section doit également offrir la possibilité de détruire les échantillons au bout d'un certain temps, ou de les conserver indéfiniment, ainsi que celle d'effacer l'identité du participant ou de la conserver avec les échantillons restants.

# Annexe 3

## Détection des antipaludiques dans les urines

### • Détection de la chloroquine

La chloroquine et son métabolite peuvent être décelés au moyen d'un test de Saker-Solomons adapté.<sup>1</sup> Pour ce test, on mélange dans un tube en verre 2 ml d'urine et 1 ml de tampon phosphate, pH 8,0, et 0,2 ml d'ester éthylique de la tétrabromophénolphthaléine (EETBP). On bouche le tube, on le secoue vigoureusement à la main pendant environ 15 secondes, puis on le laisse reposer pendant près de 15 minutes pour laisser les phases se séparer avant de lire le résultat. Une couleur jaune-vert de la couche de chloroforme indique que le test est négatif pour la chloroquine et ses métabolites ; une couleur du rouge au pourpre de la couche organique indique un résultat positif – le ton de la couleur dépend de la concentration de chloroquine et/ou de ses métabolites. En comparant la couleur obtenue pour un patient avec des étalons contenant des concentrations connues de chloroquine, on obtient des résultats semi-quantitatifs. Dans le test de Saker-Solomons, d'autres médicaments peuvent montrer une réactivité croisée avec la chloroquine, notamment la quinine, le proguanil et, dans une moindre mesure, la méfloquine et la pyriméthamine.

- La solution-mère de tampon phosphate est préparée en mélangeant 162 g de  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  avec 5 g de  $KH_2PO_4$  et 500 ml d'eau distillée.
- La solution d'ester éthylique de la tétrabromophénolphthaléine est préparée en dissolvant 50 mg d'EETBP dans 100 ml de chloroforme, puis en agitant ce mélange avec 10 ml d'HCl 2 mol/l.

### • Détection des sulfamides

#### *Test à la lignine*

Pour ce test, on dépose deux gouttes d'urine sur une bandelette de papier non blanchi (papier journal vierge ou papier absorbant non blanchi). On ajoute au centre de la tache humide une goutte d'acide chlorhydrique à 10% (3 mol/l). L'apparition d'une couleur jaune ou orange dans les 20 secondes indique la présence de sulfamides. Bien qu'il ne soit pas très sensible, le test à la lignine est suffisant pour les besoins de ce protocole. Ce test montre aussi des réactions croisées avec d'autres médicaments.

#### *Test colorimétrique qualitatif de détection de sulfamides dans les urines*

Ce test est basé sur l'extraction de la sulfadoxine (ou autres sulfamides) de l'urine dans de l'acétate d'éthyle, suivie par la formation d'une base de Schiff violet-rouge après adjonction de *p*-diméthylaminocinnamaldéhyde en solution méthanolique acide. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de sulfamide dans l'échantillon. On peut effectuer des estimations semi-quantitatives en comparant les intensités de couleur obtenues avec des échantillons inconnus à celles d'échantillons d'urine contenant des concentrations connues de sulfamides.

<sup>1</sup> Mount DL et al. Adaptations of the Saker-Solomons test: simple, reliable colorimetric field assays for chloroquine and its metabolites in urine. *Bulletin of the World Health Organization*, 1989, 67:295–300.

*Réactifs*

1. Solution de réactif coloré : 0,3% (m/v) *p*-diméthylaminocinnamaldéhyde (DMACNA) et 0,6% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dans le méthanol (par exemple : 300 mg DMACNA + 0,6 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 100 ml méthanol)
2. Solution tampon : tampon phosphate à 1,5 mol/litre, pH = 5,5 (11 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O + 85 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dissous et complété à 500 ml avec de l'eau distillée)
3. Emulsion antimousse de silicone SAG-10 diluée à 50/50 dans de l'eau
4. Acétate d'éthyle
5. Solution standard de sulfadoxine : 1mg/ml dans l'éthanol

*Méthode*

1. Préparer une courbe standard en ajoutant des volumes appropriés de solution standard de sulfadoxine à 2 ml d'urine exempte de médicament conformément au tableau suivant :

Sulfadoxine(ppm)	Volume (µl) de solution standard 1 mg/ml
0 (blanc)	0
1	2
3	6
7	14

2. A l'aide d'une pipette, ajouter 2 ml d'urine du patient à 0,5 ml d'acétate d'éthyle et 0,5 ml de solution tampon dans un flacon d'une dram en verre transparent et à bouchon vissé. Reboucher le flacon et le retourner 20 fois. Après que la phase d'acétate d'éthyle est remontée à la surface, ajouter une goutte d'antimousse SAG-10 à la phase d'acétate pour dissiper l'émulsion formée au cours de l'inversion. Si nécessaire, on peut faire tourner doucement le flacon pour favoriser le processus. Une fois que la phase d'acétate d'éthyle s'est éclaircie, ajouter 3 gouttes de réactif coloré à sa surface sans agiter. La formation d'un anneau rouge-pourpre à la surface de la couche d'acétate d'éthyle indique la présence de sulfadoxine. Pour obtenir des résultats semi-quantitatifs, comparer l'intensité de la couleur rouge-pourpre à celle des solutions standard.

*Notes:*

1. La couleur va s'estomper lentement avec le temps, mais immédiatement si on agite ou mélange la solution. Il faut donc préparer fréquemment des solutions standard fraîches.
2. Des flacons peuvent être préremplis d'acétate d'éthyle et de solution tampon.
3. Il peut arriver qu'une substance présente dans l'urine réagisse avec le réactif coloré moins rapidement que les sulfamides, donnant une couleur bleu-vert. Cette coloration plus lente n'affecte pas les résultats du test.
4. Conserver le réactif coloré dans un réfrigérateur afin d'augmenter sa durée d'utilisation. Il y a dégradation lorsque la solution perd sa couleur jaune-orange.

- **Autres tests**

Des bandelettes réactives basées sur une réaction spécifique de l'antipaludique avec des anticorps monoclonaux ont été mises au point pour la chloroquine, la pyriméthamine, la quinine et l'artémisinine. Ces tests sont plus sensibles que les tests colorimétriques classiques et leurs résultats bien corrélés avec les résultats de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC). L'HPLC permet également d'évaluer la présence d'antipaludiques dans les liquides organiques, mais la méthode exige des laboratoires bien équipés et sort du champ d'action de ce protocole.

## Annexe 4

### Taille minimum de l'échantillon

46

Si la proportion d'échecs thérapeutiques est déjà connue grâce à des études antérieures, la taille de l'échantillon nécessaire peut être calculée par des méthodes statistiques classiques d'estimation de la proportion dans la population touchée. Il faut trois types d'informations pour déterminer la taille d'échantillon convenable pour estimer une proportion dans une population – la proportion d'échecs cliniques anticipée dans la population ( $P$ ), le niveau de confiance (en général 95%) et la précision ( $d$ ) (généralement comprise entre 5 et 10%). Pour que l'échantillon soit représentatif, il convient de toujours inclure au minimum 50 malades dans l'étude.

Si la proportion d'échecs thérapeutiques n'est pas connue, on recommande d'utiliser une valeur de  $P = 0,50$ , puisque la taille de l'échantillon sera plus grande et fournira suffisamment d'observations, quel que soit le taux d'échec réel dans la population véritable. En partant du principe qu'on va choisir un échantillon aléatoire simple dans une communauté, la taille de cet échantillon doit être de 96 sujets de façon à obtenir une précision de 10% avec un niveau de confiance de 95%.

#### Exemple

Un département de la santé souhaite entreprendre un test d'efficacité thérapeutique de la chloroquine afin d'estimer la prévalence des échecs thérapeutiques dans la population locale. La chloroquine est le traitement de première intention, et le suivi systématique des cas traités laisse à penser que la prévalence des échecs cliniques se situe quelque part entre 20% et 25%. On rapporte également que la population est peu satisfaite de la chloroquine. Combien de sujets faut-il inclure dans l'échantillon pour avoir une bonne chance que l'étude estime la prévalence des échecs à 10% près par rapport à la valeur réelle avec un niveau de confiance de 95% ?

Proportion d'échecs cliniques ( $P$ ) anticipée dans la population : 20%  
 Intervalle de confiance : 95%  
 Précision ( $d$ ) : 10 points de pourcentage

Le tableau montre que pour  $P = 0,20$  et  $d = 0,10$ , une taille d'échantillon de 61 malades serait nécessaire. La taille de l'échantillon doit être ajustée pour tenir compte des retraits et perdus de vue (dont on pense qu'ils représentent 10% des sujets dans une étude avec 14 jours de suivi et 20% dans les études avec des périodes de suivi plus longues).

$$n = (1 + 0,10) \times 61 = 67 \quad \text{ou} \quad n = (1 + 0,20) \times 61 = 73$$

Il est recommandé que tous les critères utilisés pour déterminer la taille de l'échantillon soient précisés lorsque les résultats de l'étude sont rapportés.

Proportion anticipée dans la population ( $P$ ) – Niveau de confiance à 95%										
$d$	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50
0,05	73	138	196	246	288	323	350	369	380	384
0,10	18 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	49 <sup>a</sup>	61	72	81	87	92	95	96

<sup>a</sup> Pour être représentatif, un échantillon doit toujours comprendre au minimum 50 malades.

# Annexe 5

## Exemples de dossiers individuels – (a) Suivi de 28 jours dans une zone de transmission faible à modérée

SITE D'ÉTUDE	Nom de l'établissement de santé :			Ville :			District/province :									
	Numéro d'identité :	Nom complet :		Age (années) :	Sexe (M/F) :		Poids (kg) :	Taille (cm) :								
PATIENT		Adresse du domicile du contact :														
ANTIPALUDIQUES		Nom du tuteur :	Fabricant :			Date limite d'utilisation :		Dose totale (mg base) :								
		Nom du médicament :	Médicament :		Test urinaire (nom) :		Résultat :									
		Prise antérieure (O/N/ne sait pas) :	Date :	Dose totale (mg) :		Dose totale (mg base) :										
JOUR		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Date																
Signe de danger (O/N)																
Antécédents fièvre dans précédentes 24 h (O/N)																
Température axillaire (°C)																
Numération formes asexuées ( par µl)																
Traitement (mg/kg)																
Traitement concomitant																
Effets secondaires possibles des antipaludiques																
Observations																

SITE D'ÉTUDE	Nom de l'établissement de santé :										Ville :				District/province :			
PATIENT	Nom complet :					ANTIPALUDIQUES					Nom du médicament :							
	Numéro d'identité :	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28			
Date																		
Signe de danger (O/N)																		
Antécédents fièvre dans dernières 24 h (O/N)																		
Température axillaire (°C)																		
Numération formes asexuées (par µl)																		
Traitement (mg/kg)																		
Traitement concomitant																		
Effets secondaires possibles des antipaludiques																		
Observations																		
Evaluation générale :																		
				Echec thérapeutique précoce (ETP)				Echec clinique tardif (ECT)				Echec parasitologique tardif (EPT)						
				Réponse clinique et parasitologique adéquate (RCPA)				Retrait (Re)				Perdu de vue (PDV)						
Raison du retrait :																		
Jour de l'évaluation :																		

## (b) Suivi de 14 jours dans une région de transmission intense

SITE D'ÉTUDE	Nom de l'établissement de santé :			Ville :			District/province :								
	Numéro d'identité :	Nom complet :		Age (années) :	Sexe (M/F) :		Poids (kg) :		Taille (cm) :						
PATIENT		Adresse du domicile du contact :													
ANTIPAUDUQUES		Nom du tuteur :	Adresse du domicile du contact :												
ANTIPAUDUQUES		Nom du médicament :	Fabricant :		Numéro de lot :		Date limite d'utilisation :		Dose totale (mg base) :						
Prise antérieure (O/N/ne sait pas) :		Médicament :		Dose totale (mg) (nom)		Test urinaire		Résultat :							
JOUR	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Date															
Signe de danger (O/N)															
Hémoglobine (g/dl)															
Température axillaire (°C)															
Numération des formes asexuées (par µl)															
Traitement (mg/kg)															
Traitement concomitant															
Effets secondaires possibles des antipaludiques															
Observations															
Evaluation générale :		Echec thérapeutique précoce (ETP)	Echec clinique tardif (ECT)	Echec parasitologique tardif (EPT)	Réponse clinique et parasitologique adéquate (RCPA)	Retrait (Re)	Perdu de vue (PDV)								
Jour de l'évaluation :		Raison du retrait :													

# Annexe 6

## Traitements

50

Compte tenu de la nécessité de surveiller toutes les doses administrées au cours de cette évaluation, le système visant à tester l'efficacité thérapeutique convient mieux aux schémas thérapeutiques exigeant l'administration d'une dose unique ou d'une seule dose quotidienne administrée pendant 3 jours. Si les médicaments doivent être administrés plusieurs fois par jour, il peut être nécessaire d'hospitaliser les malades pendant le traitement pour veiller à ce que toutes les doses soient administrées correctement. Ce test d'efficacité thérapeutique ne vise qu'à évaluer le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué, et ne porte donc que sur des médicaments administrés par voie orale. Des renseignements détaillés sur les divers médicaments à utiliser, notamment sur le calcul des doses en fonction du poids corporel, figurent dans le document OMS intitulé *L'utilisation des antipaludiques*.<sup>1</sup>

### Médicaments et formulations

Les médicaments employés pour les tests d'efficacité thérapeutique doivent provenir d'un lot fiable, ayant fait l'objet d'un contrôle de la qualité ; l'OMS peut fournir une aide pour l'achat des médicaments. Les médicaments ne doivent pas être utilisés au-delà de la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage. Pour les besoins d'une identification ultérieure, le fabricant et le numéro du lot du médicament administré doivent être enregistrés dans le dossier du malade.

Cette méthode d'évaluation convient à tout traitement antipaludique classique, notamment à ceux faisant appel à des associations. En général, les médicaments actuellement employés et ceux qui sont considérés comme des solutions de remplacement possibles sont systématiquement testés. Les protocoles destinés à l'évaluation des nouveaux traitements antipaludiques, notamment des nouvelles associations d'antipaludiques, doivent être approuvés par une instance d'examen éthique indépendante et compétente, de façon à veiller à ce que la sécurité des malades soit protégée. Les médicaments et formulations suivants sont très souvent évalués à l'aide de ce test d'efficacité :

#### • CHLOROQUINE

Comprimés : 100 mg base ou 150 mg base (sous forme de phosphate ou sulfate)

Sirop : 50 mg / 5ml (sous forme de phosphate ou sulfate)

#### *Traitement par la chloroquine*

Le traitement par la chloroquine consiste en une cure de 3 jours aux doses suivantes :

Jour 0 10 mg base/kg de poids corporel

Jour 1 10 mg base/kg de poids corporel

Jour 2 5 mg base/kg de poids corporel

Dans la pratique, il est difficile de diviser les comprimés en fractions contenant exactement la dose souhaitée en fonction du poids. On utilise donc une échelle de poids avec une posologie ajustée sur les fractions de comprimés les plus proches. Le goût amer de la chloroquine fait qu'il est souvent difficile de traiter les nourrissons

<sup>1</sup> *L'utilisation des antipaludiques. Rapport d'une consultation informelle de l'OMS*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2001 (document WHO/CDS/RBM/2001.33).

et les jeunes enfants avec succès. Le fait d'écraser les comprimés et de les mélanger avec un peu d'eau et de sucre dans une cuillère permet souvent de résoudre ce problème ; pour les enfants qui ont une tendance marquée aux vomissements, les comprimés écrasés peuvent être mélangés avec de la banane ou avec d'autres aliments disponibles localement.

---

• **AMODIAQUINE**

Comprimés : 153 mg base (sous forme de chlorhydrate)

Comprimés : 200 mg et 600 mg base (sous forme de chlorhydrate) disponibles mais difficiles à couper

*Traitement par l'amodiaquine*

Le traitement par l'amodiaquine suit la même posologie que celle indiquée pour la chloroquine ci-dessus. Toutefois, on a utilisé sans aucun problème des doses comprises entre 25 et 35 mg d'amodiaquine base/kg pendant 3 jours. La posologie la plus pratique est de 30 mg base/kg répartis équitablement sur 3 jours.

---

• **ASSOCIATIONS SULFAMIDE-PYRIMÉTHAMINE**

Comprimés : 500 mg sulfadoxine + 25 mg pyriméthamine

Comprimés : 500 mg sulfalène + 25 mg pyriméthamine

*Traitement par les associations sulfamide-pyriméthamine*

Les associations sulfadoxine-pyriméthamine et sulfalène-pyriméthamine sont administrées en dose unique équivalentes à 1,25 mg de pyriméthamine/kg de poids corporel (jusqu'à une dose maximum de 3 comprimés chez l'adulte). Si la température dépasse 38,5 °C, le patient doit recevoir immédiatement une dose de paracétamol ; on lui en donnera une autre à prendre plus tard chez lui si la fièvre persiste. Les parents/tuteurs doivent avoir pour instruction d'éponger l'enfant à l'eau tiède pour faire baisser la fièvre au cours des premières 24 à 48 heures. Si l'on oublie de leur en parler, ils peuvent penser que le traitement n'est pas efficace et rechercher d'autres médicaments interférant avec le protocole de l'étude.

---

• **MÉFLOQUINE**

Comprimés : 250 mg base (sous forme de chlorhydrate)

*Note* : La formulation disponible aux Etats-Unis contient 228 mg de mefloquine base.

*Traitement par la mefloquine*

La dose standard pour adulte destinée au traitement du paludisme non compliqué est de 25 mg base/kg de poids corporel. Sa biodisponibilité est améliorée si le malade boit de l'eau ou mange juste avant la prise du médicament. Les enfants fébriles sont davantage susceptibles de présenter des vomissements liés au médicament, la fièvre pouvant être diminuée par l'administration d'un antipyrétique. La méfloquine est sensiblement mieux tolérée si elle est répartie en plusieurs prises administrées de 6 à 24 heures d'intervalle.

---

• **DÉRIVÉS DE L'ARTÉMISININE**

*Traitement par les dérivés de l'artémisinine et les associations qui en renferment :*

Le traitement par les seuls dérivés de l'artémisinine dure plus de 3 jours et n'entre donc pas dans le cadre de ce protocole. Cependant, les artémisinines (en particulier l'artésunate) utilisées en association avec d'autres antipaludiques (tels que l'amodiaquine, la sulfadoxine-pyriméthamine, la méfloquine ou la luméfántrine) sont

couramment évaluées. L'association fixe d'artéméther et de luméfántrine est administrée deux fois par jour pendant 3 jours et nécessiterait probablement une hospitalisation pour veiller à ce que la posologie soit correctement appliquée. Lorsqu'il est associé à d'autres antipaludiques pour soigner un accès non compliqué, l'artésunate est administré à la dose de 4 mg/kg une fois par jour pendant 3 jours. Le schéma posologique de l'autre médicament (qu'il s'agisse de l'amodiaquine, de la sulfadoxine-pyriméthamine ou de la méfloquine) est le même que celui indiqué plus haut. On peut améliorer l'acceptabilité de l'association d'artésunate et de méfloquine en divisant la dose de méfloquine le deuxième et le troisième jour. On trouvera dans le document OMS intitulé *L'utilisation des antipaludiques*<sup>1</sup> des informations complémentaires concernant le dosage correct d'autres associations contenant de l'artémisinine.

### Autres médicaments

Il est autorisé d'administrer du paracétamol aux jours 0, 1 et 2 si l'état du malade le justifie. Si, au cours du suivi, des infections autres que le paludisme exigent l'administration de médicaments ayant une activité antipaludique (tels que le co-trimoxazole, la tétracycline ou la doxycycline), le malade devra être retiré de l'étude. En revanche, on n'exclura pas les patients qui reçoivent une pommade oculaire à la tétracycline.

<sup>1</sup> *Ibid.*

# Annexe 7

## Papier filtre servant au prélèvement et à la conservation des échantillons pour les études sur les marqueurs moléculaires

*Recommandations formulées par les groupes de travail au cours de l'atelier sur les marqueurs de la résistance aux antipaludiques : applications pratiques, cliniques et épidémiologiques, Genève 14–16 juin 1999*

53

On dispose de plusieurs méthodes pour effectuer des prélèvements de sang infesté destinés à une analyse moléculaire. Les participants à l'atelier se servent surtout des bâtonnets IsoCode® (Schleicher et Schuell) et du papier-filtre 3MM® (Whatman). Les techniques d'extraction de l'ADN parasitaire sont aussi simples pour les deux types d'échantillonnage. Les bâtonnets IsoCode® sont plus coûteux mais offrent l'avantage d'avoir une taille d'échantillon standardisée et de se présenter en éléments de conservation préconditionnés. On n'a pas effectué de comparaisons rigoureuses directes des rendements d'extraction d'ADN. Tous les échantillons doivent être clairement étiquetés à l'encre indélébile avec mention de la date, du numéro d'identification de l'étude et de toute autre information utile telle la mention du jour après traitement.

Les bâtonnets IsoCode® doivent être conservés dans les sacs en plastique individuels scellés munis d'un dessicant fourni par le fabricant. Les sites qui ont opté pour l'utilisation du papier 3MM® doivent se procurer des petits sacs à fermeture coulissante analogues à ceux utilisés par les pharmacies de nombreux pays pour dispenser les pilules, et conserver les papiers-filtres individuellement avec des sachets de dessicant qu'on peut acheter en vrac et à peu de frais. Les conditions de conservation doivent permettre de protéger les échantillons des valeurs extrêmes de température et d'humidité. Lorsqu'il n'est pas possible de les conserver à température ambiante, par exemple dans des environnements extrêmement humides où il n'y a pas de système d'air conditionné, on peut envisager de les conserver au réfrigérateur ou au congélateur, mais en faisant très attention à protéger les échantillons du givre et de l'humidité.

# Annexe 8

## Calendrier de suivi de base

**54**

	Jour 0	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 7	Jour 14	(Jour 21)	(Jour 28)	(autre jour)
PROCÉDURES									
Evaluation clinique	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Température	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Goutte épaisse numération	X	(X)	X	X	X	X	X	X	(X)
Hémoglobine/hématocrite <sup>a</sup>	(X)					(X)		(X)	(X)
Echantillon d'urine	(X)								
Sang pour PCR	(X)					(X)	(X)	(X)	(X) au-delà jour 14
TRAITEMENT									
Médicament à tester	X	(X)	(X)						
Traitement de secours		(X)	(X)	(X)	(X)	(X)	(X)	(X)	(X)

<sup>a</sup> Volume des érythrocytes par rapport au sang total (en pourcentage)

**NOTES:** Les parenthèses indiquent des activités conditionnelles ou facultatives. Par exemple, le traitement aux jours 1 et 2 ne sera appliqué que pour des médicaments exigeant une administration sur 3 jours. Au jour 1, le patient doit être examiné à la recherche d'une parasitémie si il ou elle présente un quelconque signe de danger. Le traitement de secours pourrait être administré n'importe quel jour, à condition que le malade satisfasse aux critères définissant l'échec thérapeutique. Les jours supplémentaires sont tous les jours autres que ceux régulièrement prévus pour le suivi auxquels le patient revient dans l'établissement à cause d'une récurrence des symptômes. A ce moment-là, des gouttes épaisses peuvent être ou non systématiquement réalisées ; dans les régions de transmission intense, on ne réalisera ces dernières que si la fièvre a pu être mesurée (ou à la demande du personnel clinique pour des raisons touchant à la sécurité du malade).

**Jour 0 :**

---

Evaluation clinique – transfert à l'hôpital en cas de paludisme grave ou de signes de danger  
Mesure de la température axillaire  
Evaluation parasitologique  
Consentement éclairé – recrutement dans l'étude  
Mesure du poids et de la taille – traitement, première dose  
Facultatif : hémoglobine/hématocrite, test urinaire, prélèvement de sang pour PCR

**Jour 1 :**

---

Evaluation clinique – transfert à l'hôpital en cas de paludisme grave ou de signes de danger  
Mesure de la température axillaire  
Evaluation parasitologique en cas de paludisme grave ou de signes de danger  
Traitement, deuxième dose ou autre traitement en cas d'échec thérapeutique précoce

**Jour 2 :**

---

Evaluation clinique – transfert à l'hôpital en cas de paludisme grave ou de signes de danger  
Mesure de la température axillaire  
Evaluation parasitologique  
Traitement, troisième dose ou autre traitement en cas d'échec thérapeutique précoce

**Jour 3, jour 7, jour 14, jour 21 et jour 28 :**

---

Evaluation clinique – transfert à l'hôpital en cas de paludisme grave ou de signes de danger  
Mesure de la température axillaire  
Evaluation parasitologique  
Autre traitement en cas d'échec thérapeutique  
Facultatif : hémoglobine/hématocrite (jour 14, jour 28), prélèvement de sang pour PCR (en cas d'échec à partir du 14<sup>e</sup> jour)

**N'importe quel autre jour :**

---

Evaluation clinique – transfert à l'hôpital en cas de paludisme grave ou de signes de danger  
Mesure de la température axillaire  
Evaluation parasitologique  
Autre traitement en cas d'échec thérapeutique

# Annexe 9

## Classification des réponses au traitement

56

RÉGION DE TRANSMISSION INTENSE

RÉGION DE TRANSMISSION FAIBLE À MODÉRÉE

### *Echec thérapeutique précoce (ETP)*

#### ETP

- Apparition de signes de danger ou de paludisme grave aux jours 1, 2 ou 3, en présence d'une parasitémie
- Parasitémie au jour 2 supérieure à celle du jour 0, quelle que soit la température axillaire
- Parasitémie au jour 3 et température axillaire  $\geq 37,5$  °C
- Parasitémie au jour 3  $\geq 25\%$  par rapport à celle du jour 0

#### ETP

- Apparition de signes de danger ou de paludisme grave aux jours 1, 2 ou 3, en présence d'une parasitémie
- Parasitémie au jour 2 supérieure à celle du jour 0, quelle que soit la température axillaire
- Parasitémie au jour 3 et température axillaire  $\geq 37,5$  °C;
- Parasitémie au jour 3  $\geq 25\%$  par rapport à celle du jour 0

### *Echec thérapeutique tardif (ETT)*

#### *Echec clinique tardif (ECT)*

- Apparition de signes de danger ou de paludisme grave après le jour 3, en présence d'une parasitémie, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce*
- Présente d'une parasitémie et température axillaire  $\geq 37,5$ °C, n'importe quand entre jour 4 et jour 14, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce*

#### *Echec clinique tardif (ECT)*

- Apparition de signes de danger ou de paludisme grave après le jour 3, en présence d'une parasitémie, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce*
- Présente d'une parasitémie et température axillaire  $\geq 37,5$ °C (ou antécédent de fièvre) n'importe quand entre jour 4 et jour 28, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce*

#### *Echec parasitologique tardif (EPT)*

- Présence d'une parasitémie au jour 14 et température axillaire  $< 37,5$ °C, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce* ou d'*Echec clinique tardif*

#### *Echec parasitologique tardif (EPT)*

- Présence d'une parasitémie n'importe quand entre jour 7 et jour 28 et température axillaire  $< 37,5$  °C, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce* ou d'*Echec clinique tardif*

### *Réponse clinique et parasitologique adéquate (RCPA)*

#### RCPA

- Absence de parasitémie au jour 14, quelle que soit la température axillaire, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce*, d'*Echec clinique tardif* ou d'*Echec parasitologique tardif*

#### RCPA

- Absence de parasitémie au jour 28, quelle que soit la température axillaire, en l'absence préalable de tout critère d'*Echec thérapeutique précoce*, d'*Echec clinique tardif* ou d'*Echec parasitologique tardif*

# Annexe 10

## Calcul à la main des courbes de survie de Kaplan-Meier

J	N	TF	ex	IR	SCI	FCI
0	65	0	0	1,000	1,000	0
1	65	0	0	1,000	1,000	0
2	65	2	0	0,969	0,969	0,031
3	63	2	1	0,968	0,938	0,062
4	60	0	0	1,000	0,938	0,062
5	60	0	0	1,000	0,938	0,062
6	60	0	0	1,000	0,938	0,062
7	60	4	2	0,931	0,873	0,127
8	54	0	0	1,000	0,873	0,127
9	54	0	0	1,000	0,873	0,127
10	54	0	0	1,000	0,873	0,127
11	54	2	0	0,963	0,841	0,159
12	52	0	0	1,000	0,841	0,159
13	52	0	0	1,000	0,841	0,159
14	52	5	0	0,904	0,760	0,240
Total		15	3			

J = jour du test

$N_J$  = nombre de sujets qui restent à risque  
 =  $N_{J-1} - TF_{J-1} - ex_{J-1}$  où J est le jour du test et J-1 la veille

TF = cas d'échecs thérapeutiques incidents

ex = cas exclus de l'étude parce qu'ils ont été perdus de vue, retirés de celle-ci ou parce qu'il y a eu violation du protocole

$IR_J$  = probabilité d'échec thérapeutique dans l'intervalle de temps considéré  
 (au jour 0,  $IR = 1$ )  
 =  $[(N_J - ex_J) - TF_J] / (N_J - ex_J)$

$SCI_J$  = incidence cumulée des succès thérapeutiques (au jour 0,  $SCI_J = 1$ )  
 =  $IR_J \times SCI_{J-1}$  où J est le jour du test et J-1 la veille ; par exemple, pour calculer la SCI au jour 14, prendre l'IR au jour 14 et la SCI au jour 13

$FCI_J$  = incidence cumulée des échecs thérapeutiques  
 =  $1 - SCI_J$

# Annexe 11

## Préparation des réactifs

58

- **Solution mère de tampon Giemsa 100X (0,67 mol/litre)**

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	59,24 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	36,38 g
Eau désionisée	1 000 ml

*Méthode.* Passer à l'autoclave ou filtrer-stériliser (pores de 0,2 µm). Le tampon stérile est stable à température ambiante pendant un an.

- **Tampon Giemsa de travail (0,0067 mol/litre, pH 7,2)**

Solution mère de tampon Giemsa	10,0 ml
Eau désionisée	990,0 ml

*Méthode.* Vérifier le pH avant utilisation : il doit être de 7,2. Cette solution de travail est stable à température ambiante pendant environ un mois.

- **Triton X-100 (5%) – si disponible**

Eau désionisée (chauffée à 56 °C)	95,0 ml
Triton X-100	5,0 ml

*Méthode.* Préchauffer l'eau désionisée et ajouter lentement le Triton X-100, en faisant tourner le tube pour mélanger.

- **Solution mère de colorant de Giemsa**

*Note :* On trouve le colorant de Giemsa dans le commerce, mais la formulation suivante donne des résultats plus constants et n'a pas de date limite d'utilisation.

Billes de verre, 3,0 mm	30,0 ml
Méthanol absolu, exempt d'acétone	270,0 ml
Poudre de colorant de Giemsa certifiée	3,0 g
Glycérol	140,0 ml

*Méthode.* Verser les billes de verre et les autres ingrédients dans l'ordre indiqué dans un flacon en verre jaune de 500 ml propre et sec. Le boucher hermétiquement avec un bouchon à vis. Le déposer incliné sur un agitateur et agiter modérément pendant 30–60 minutes par jour, pendant au moins 14 jours. Garder le flacon hermétiquement fermé et exempt d'humidité. La solution mère de colorant de Giemsa est stable indéfiniment à température ambiante et, en réalité, va s'améliorer avec le temps. Secouer le flacon avant utilisation. Filtrer une petite quantité de cette solution mère à travers un papier-filtre Whatman N° 1 dans un tube à essai propre. Pipeter dans ce tube pour préparer le colorant de Giemsa de travail, de manière à éviter toute contamination de la solution mère.

- **Colorant de Giemsa de travail (2,5%)**

Tampon de Giemsa de travail	39 ml
Solution mère de colorant de Giemsa	1 ml
Triton X-100, 5%	2 gouttes – si disponible

# Annexe 12

## Classification de l'endémie palustre

Type	Indice splénique	Indice plasmodique
Hypoendémie	0–10% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans	Moins de 10% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans, mais peut être plus élevé pendant une partie de l'année
Mésoendémie	11–50% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans	11–50% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans
Hyperendémie	Constamment au-dessus de 50% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans, et supérieur à 25% chez l'adulte	Constamment au-dessus de 50% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans
Holoendémie	Constamment au-dessus de 75% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans, mais faible chez l'adulte	Constamment au-dessus de 75% chez les nourrissons âgés de 0 à 11 mois

### *Transmission faible*

- Un sujet peut atteindre l'adolescence avant d'être infecté et peut en échapper complètement

### *Transmission modérée*

- L'incidence maximale apparaît au cours de l'enfance et de l'adolescence, bien qu'il ne soit pas rare d'atteindre l'âge adulte avant d'être infecté

### *Transmission intense*

- A la fin de la petite enfance ou au début de l'enfance, pratiquement tous les sujets sont infectés. Peu de maladie aiguë chez les adolescents et encore moins chez les adultes
- La plupart des individus sont infectés au début de la petite enfance, mais les manifestations aiguës sont moins fréquentes dans l'enfance et sont rares chez les adultes

# Annexe 13

## Matériel standard nécessaire pour le test d'efficacité thérapeutique

60

Tout le matériel et les fournitures doivent être de bonne qualité et – lorsqu'ils ne sont pas utilisés – conservés de manière à éviter leur détérioration. Dans de nombreux pays, les services de santé doivent pouvoir mettre ce matériel à disposition. Cependant, lorsqu'il n'est pas facilement disponible, une provision budgétaire devra être constituée à cet effet.

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE POUR UNE ÉQUIPE D'ÉTUDE

<i>ARTICLE</i>	<i>NOMBRE NÉCESSAIRE</i>
<i>(1) Clinique</i>	
Stéthoscope	1 (par médecin)
Balance	1 (par médecin)
Toise	1 (par médecin)
Thermomètre électronique	3 (par médecin)
Petite cuillère	2 (par médecin)
<i>(2) Laboratoire</i>	
Microscope, binoculaire, avec éclairage (ou microscope avec miroir pour les endroits sans électricité)	1
Compteur-enregistreur	2
Sèche-cheveux (pour régions et saisons humides)	1
Minuteur de laboratoire	2
Boîte pour le rangement vertical des lames	10
Boîte pour le rangement horizontal des lames, type OMS	2
Plateau pour lames, carton	2
Support en bois pour sécher les lames	1
Boîte ou cuve à coloration	3
Flacon à bouchon vissé, plastique, 500 ml	2
Flacon ou jerricane à bouchon vissé, plastique, 5 l	2
Eprouvette graduée, plastique, 500 ml	2
Eprouvette graduée, plastique, 10 ml	2
Flacon compte-gouttes, plastique ou verre, 50 ml	2
Baguette de verre, 50 cm, pour coloration rapide	4
<i>(3) Général</i>	
Planchette à pincettes	1 (par médecin)
Pochette pour dossiers, carton rigide	10
Boîte de transport	3

### FOURNITURES NÉCESSAIRES POUR 100 MALADES

<i>ARTICLE</i>	<i>NOMBRE NÉCESSAIRE</i>
<i>(1) Clinique</i>	
Médicament à tester	150 doses
Médicament de remplacement (de 2 <sup>e</sup> intention)	100 doses
Médicament de 3 <sup>e</sup> intention, le temps échéant	50 doses
Quinine, solution pour injection	20 ampoules
Cotrimoxazole	200 comprimés

<i>ARTICLE</i>	<i>NOMBRE NÉCESSAIRE</i>
Paracétamol	200 comprimés
Amoxicilline	200 doses
Seringue pour injection, stérile, jetable, 2 ml	20
Seringue pour injection, stérile, jetable, 5 ml	20
Aiguille pour les seringues ci-dessus, N° 12 ou 14	40
Pile de rechange pour le thermomètre électronique	3
Tasse en plastique	3
<i>(2) Récompenses pour les jeunes malades</i>	
Bonbons, paquet de 100	10
Biscuits, paquet de 50	10
Sucre	1 kg
<i>(3) Laboratoire</i>	
Lame porte-objets, bord dépoli, paquet de 100	15
Papier optique, paquet de 100	2
Hémostyle (vaccinostyle), paquet de 100	8
Ecouvillon, alcool (70 %), paquet de 100	8
Gants en caoutchouc, jetables, taille moyenne	50 paires
Gants en caoutchouc, jetables, grande taille	50 paires
Pipette de transfert, jetable, 5 ml, paquet de 100	1
Pipette de transfert, jetable, 1 ml, paquet de 100	1
Marqueur indélébile pour verrerie, résistant au xylène	5
Plasticine	200 g
Comprimé de tampon, pH 7,2	20
Huile à immersion, flacon de 50 ml	1
Xylène, flacon de 500 ml	1
Méthanol, flacon de 500 ml	1
Solution mère de colorant de Giemsa, flacon de 500 ml	1
Eau distillée	20 litres
Coton hydrophile, paquet de 500 g	2
Seringue en plastique, 10 ml	2
<i>(4) Général</i>	
Registre des soins, A4, 100 pages	1 (par médecin)
Bloc-notes, A4	4
Stylo à bille, noir/bleu	10
Stylo à bille, rouge	10
Ruban adhésif, 30 m	2
Papier hygiénique, rouleau	10
Dossier pour patients	150
Carte pour patients	150
Formulaire de laboratoire (microscopie et hématologie)	700

# Annexe 14

## Exemple de table des matières d'un protocole

62

Cette annexe indique quelles sont les sections essentielles d'un protocole de surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué en fonction de la situation épidémiologique. Par souci de clarté, de cohérence et d'exhaustivité, toutes les rubriques qui suivent doivent figurer dans le protocole et y être expliqués en détail.

### PAGE DE COUVERTURE

- Titre
- Chercheur principal
- Chercheurs
- Etablissement réalisant l'étude
- Sites de l'étude
- Dates de début et de fin prévues
- Source de financement

### RÉSUMÉ

#### GÉNÉRALITÉS

- Situation du paludisme dans le pays
- Etudes antérieures sur l'efficacité thérapeutique des antipaludiques

#### OBJECTIFS

- Généraux
- Particuliers

#### CONCEPTION DE L'ÉTUDE

- Description du (des) site(s)
- Calendrier
- Composition de l'équipe
- Médicament(s) à tester :
  - antipaludiques
  - traitement concomitant
  - traitement de secours
- Critères d'inclusion dans l'étude

#### – Région de transmission intense

- ◇ âge compris entre 6 et 59 mois
- ◇ infestation monospécifique par *P. falciparum*
- ◇ parasitémie comprise entre 2 000 et 200 000 formes asexuées par µl
- ◇ température axillaire ≥ 37,5 °C
- ◇ possibilité de venir aux rendez-vous fixés pour le suivi ; accès facile à l'établissement de santé /
- ◇ consentement éclairé du parent/tuteur

#### – Région de transmission faible à modérée

- ◇ âge supérieur à 6 mois
- ◇ infestation monospécifique par *P. falciparum*
- ◇ parasitémie comprise entre 1000 et 100 000 formes asexuées par µl
- ◇ température axillaire ≥ 37,5 °C ou antécédents de fièvre au cours des dernières 24 heures
- ◇ possibilités de venir aux rendez-vous fixés pour le suivi ; accès facile à l'établissement de santé
- ◇ consentement éclairé du malade ou d'un parent/tuteur s'il s'agit d'un enfant

- Critères d'exclusion dans l'étude

- ◇ présence d'un ou plusieurs signes généraux de danger ou d'un signe quelconque indiquant qu'on a affaire à un paludisme grave ou compliqué
- ◇ présence d'une infestation mixte
- ◇ présence d'une malnutrition sévère
- ◇ présence d'affections fébriles dues à d'autres causes que le paludisme
- ◇ présence d'une maladie grave
- ◇ contre-indications en rapport avec les antipaludiques employés, en particulier des antécédents d'allergie
- ◇ grossesse (*dans région de transmission faible à modérée seulement*)

- Taille de l'échantillon

*Estimation de la proportion dans une population à un niveau de confiance de 95%*

<i>d</i>	Proportion anticipée dans la population ( <i>P</i> )									
	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50
0,05	73	138	196	246	288	323	350	369	380	384
0,10	50	50	50	61	72	81	87	92	95	96

## MÉTHODES DE DÉPISTAGE ET DE RECRUTEMENT

### QUESTIONS D'ORDRE ÉTHIQUE

- Autorisation du comité d'éthique
- Consentement éclairé

### EXAMENS DE LABORATOIRE

- Examen sanguin pour le diagnostic du paludisme
- Evaluation hématologique (hémoglobine/hématocrite) (facultatif)
- Test urinaire (facultatif)
- PCR (obligatoire dans les régions de transmission intense s'il y a un suivi sur 28 jours)
- Test de grossesse (si des adultes sont inclus dans l'étude)

## MÉTHODES DE SUIVI

## CRITÈRES DE JUGEMENT

Tous les malades doivent être répertoriés dans une des catégories suivantes : *Réponse clinique et parasitologique adéquate*, *Echec parasitologique tardif*, *Echec clinique tardif*, *Echec thérapeutique précoce*, *Perdu de vue* ou *Retiré de l'étude*.

## Régions de transmission intense

- *Echec thérapeutique précoce (ETP)*
  - Apparition de signes de danger ou d'un paludisme grave aux jours 1, 2 ou 3, en présence d'une parasitémie
  - Parasitémie au jour 2 supérieure à celle du jour 0, *quelle que soit la température axillaire*
  - Parasitémie au jour 3 avec température axillaire  $\geq 37.5$  °C
  - Parasitémie au jour 3  $\geq 25\%$  à celle du jour 0
- *Echec clinique tardif (ECT)*
  - Apparition de signes de danger ou d'un paludisme grave après le jour 3 en présence d'une parasitémie, sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce* n'ait été satisfait auparavant
  - Présence d'une parasitémie et d'une température axillaire  $\geq 37.5$  °C entre le jour 4 et le jour 14 (jour 28<sup>1</sup>), sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce* n'ait été satisfait auparavant
- *Echec parasitologique tardif (EPT)*
  - Présence d'une parasitémie au jour 14 (jour 28<sup>1</sup>) et température axillaire  $< 37.5$  °C, sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce* ou d'*Echec clinique tardif* n'ait été satisfait auparavant
- *Réponse clinique et parasitologique adéquate (RCPA)*
  - Absence de parasitémie au jour 14 (jour 28<sup>1</sup>) quelle que soit la température axillaire, sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce*, d'*Echec clinique tardif* ou d'*Echec parasitologique tardif* n'ait été satisfait auparavant

<sup>1</sup> Si le suivi est de 28 jours

## Régions de transmission faible à modérée

• *Echec thérapeutique précoce (ETP)*

- Apparition de signes de danger ou d'un paludisme grave aux jours 1, 2 ou 3, en présence d'une parasitémie
- Parasitémie au jour 2 supérieure à celle du jour 0, *quelle que soit la température axillaire*
- Parasitémie au jour 3 avec température axillaire  $\geq 37,5$  °C
- Parasitémie au jour 3  $\geq 25\%$  à celle du jour 0

• *Echec clinique tardif (ECT)*

- Apparition de signes de danger ou d'un paludisme grave après le jour 3 en présence d'une parasitémie, sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce* n'ait été satisfait auparavant
- Présence d'une parasitémie et d'une température axillaire  $\geq 37,5$  °C entre les jours 4 et 28, sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce* n'ait été satisfait auparavant

• *Echec parasitologique tardif (EPT)*

- Présence d'une parasitémie entre les jours 7 et 28 et d'une température axillaire  $< 37,5$  °C, sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce* ou d'*Echec clinique tardif* n'ait été satisfait auparavant

• *Réponse clinique et parasitologique adéquate (RCPA)*

- Absence de parasitémie au jour 28, quelle que soit la température axillaire et sans qu'aucun critère d'*Echec thérapeutique précoce*, d'*Echec clinique tardif* ou d'*Echec parasitologique tardif* n'ait été satisfait auparavant

*Raisons du retrait d'un malade de l'étude, s'agissant notamment de retraits volontaires et involontaires et violation du protocole*

- Retrait du consentement
- Impossibilité d'achever le traitement
- Vomissement persistant du traitement
- Effets secondaires graves nécessitant l'hospitalisation
- Apparition durant le suivi d'une maladie concomitante qui ne permettrait pas de classer de manière claire la réponse au traitement
- Réinfestation par *P. falciparum* au cours du suivi
- Cas où les résultats de la PCR sont ininterprétables
- Dépistage d'une infestation par une autre espèce palustre au cours du suivi
- Traitement antipaludique (ou par des antibiotiques ayant une activité antipaludique) administré par une tierce partie ou automédication par un antipaludique (ou par des antibiotiques ayant une activité antipaludique)
- Impossibilité d'effectuer toutes les visites prévues
- Inclusion erronée d'un malade ne satisfaisant pas aux critères d'inclusion
- Paludisme grave se déclarant au jour 0
- Erreur de classification d'un malade en raison d'une erreur de laboratoire (parasitémie) conduisant à l'administration du traitement de secours

#### ANALYSE

- Selon la méthode « per protocol », calcul de la courbe de survie

#### CONTRÔLE DE QUALITÉ

- Température, poids corporel, étalements de sang, médicaments, données (dossier du malade, saisie informatique des données, analyse), examens de laboratoire

#### DIFFUSION DES DONNÉES

- Données brutes dans une base de données
- Rapport

#### BUDGET

#### ANNEXES

- Définition du paludisme grave
- Calendrier de suivi
- Tableau posologique des antipaludiques
- Formulaire de dépistage
- Dossiers des malades
- Consentement éclairé (traduit dans la langue maternelle des sujets potentiels)