

Université Bordeaux Segalen Université d'Antananarivo

Année 2011

Thèse n°

THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ BORDEAUX SEGALEN

Mention: Sciences de la Vie

Option: Epidémiologie et Santé Publique

Présentée et soutenue publiquement par Arsène RATSIMBASOA

le 8 Novembre 2011

PRISE EN CHARGE DU PALUDISME AU NIVEAU COMMUNAUTAIRE CHEZ LES ENFANTS DE MOINS DE 5 ANS **Evaluation de la mise en œuvre de la nouvelle politique nationale**

Membres du Jury

Professeur Denis MALVY

Professeur Philippe BRASSEUR

Docteur Rémy DURAND

Professeur Rabenja RAPELANORO FAHAFAHANTSOA

Docteur Ronan JAMBOU

Docteur Voahangy RASOLOFO RAZANAMPARANY

Docteur Pascal MILLET

Docteur Didier MENARD

Président du Jury

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

À mes fils, **Ny Ako** et **Ny Faniry**, à ma femme, **Ony Soa**, qui ont supporté mes sautes d'humeur, mon caractère et accepté, parfois contraints, de sacrifier notre précieuse vie de famille,

À mes sœurs et mes frères,

À mes amis,

Aux enseignants ayant contribué à ma formation,

À mes différents employeurs ayant contribué à compléter cette thèse consciemment ou inconsciemment, dans la douleur ou dans la plénitude,

À l'ensemble des personnes qui ont participé de près ou de loin aux recherches à *Amapasimanjeva* et *Moramanga*, Madagascar.

À **Benja**, **Jean de Dieu Marie**, **Pascal** et **Didier**, tout particulièrement, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible,

À **Benjamin**, **Pascal** plus que des supérieurs hiérarchiques, pour leur soutien et la place ménagée pour effectuer ce travail de longue haleine,

À mes collègues du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux et du Programme National de Lutte Contre le Paludisme.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur le Professeur **Denis MALVY**, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de thèse de ce doctorat, et pour m'avoir accueilli au sein de son équipe.

Je suis très reconnaissant envers Monsieur les Professeurs **Philippe BRASSEUR** et **Rémy DURAND** pour avoir accepté de faire partie de ce jury en un temps très court et d'être le rapporteur de cette thèse.

*Je tiens à exprimer ma gratitude envers Monsieur les Professeurs **Rabenja RAPELANORO FAHAFAHANTSOA** et aux docteurs **Voahangy RASOLOFO RAZANAMPARANY** et **Ronan JAMBOU** pour leur présence en tant qu'examineur dans ce jury.*

*Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers Monsieur les Professeurs **Christophe ROGIER** et **Daouda SISSOKO**, pour m'avoir accompagné à analyser les données épidémiologiques*

*Quant au Docteur **Didier MENARD**, mon mentor, que dire ? Je crois que je lui dois énormément, rendons à César ce qui est à César : sa connaissance des maladies négligées et de leur contexte international, son savoir, sa dimension internationale, son réseau de contacts mais aussi l'ambiance de travail détendue tout en abattant des tâches herculéennes en font une personne hors du commun que j'ai eu la chance de rencontrer.*

*À Monsieur le Docteur **Pascal MILLET**, qui m'a permis de faire mes premiers pas dans la recherche en santé, dans le domaine des maladies tropicales dont le paludisme en particulier, sans lui je ne serais pas arrivé au stade de présentation de cette thèse.*

"Mon âme, bénis Yaweh, Et que tout ce qui est en moi bénisse son saint nom" Psaume 103.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	2
TABLE DES MATIÈRES.....	4
LISTE DES TABLEAUX & FIGURES	5
ABREVIATIONS ET SIGLES.....	6
1. INTRODUCTION	7
2. CONTEXTE ET REVUE DE LITTÉRATURE	10
2.1. Généralités sur le paludisme	10
2.1.1. Etiologie du paludisme.....	10
2.1.2. Cycle Biologique des <i>Plasmodium</i>	11
2.1.3. La lutte contre le paludisme.....	12
2.2. Le paludisme à Madagascar	16
2.2.1. Situation démographique, administrative, sanitaire de Madagascar.....	16
2.2.2. Situation épidémiologie du paludisme	17
2.2.3. Contexte historique et actuelle de la lutte contre le paludisme à Madagascar.....	23
2.2.4. Stratégies de lutte actuellement mise en place à Madagascar : Interventions par faciès.....	26
2.2.5. La prise en charge des cas de paludisme à Madagascar : Données de littérature.....	28
3. OBJECTIFS ET RÉSULTATS DE L'ÉTUDE.....	36
3.1. Objectif 1. Etude de l'efficacité thérapeutique de la combinaison fixe « artesunate-amodiaquine » dans la prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans au niveau communautaire.	37
3.2. Objectif 2: Evaluation de l'intérêt de l'utilisation des tests de diagnostic rapide au niveau communautaire ou comment améliorer la prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans à Madagascar ?.....	47
3.3. Objectif 3: Situation épidémiologie du paludisme au niveau communautaire et évaluation de l'impact des stratégies de lutte actuellement mises en œuvre.	63
4. DISCUSSIONS & CONCLUSIONS.....	82
5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	84

LISTE DES TABLEAUX & FIGURES

FIGURE 1: CYCLE BIOLOGIQUE SIMPLIFIE DES PLASMODIUM	11
FIGURE 2: FACIES EPIDEMIOLOGIQUE DU PALUDISME	18
FIGURE 3 : REPARTITION DES ESPECES PLASMODIALES A MADAGASCAR	20
FIGURE 4: REPARTITION DES VECTEURS DU PALUDISME.....	22
FIGURE 5: MORBIDITE DUE AU PALUDISME EXPRIMEE EN NOMBRE DE CAS POUR 1000 HAB	24
FIGURE 6: STRATEGIES PAR FACIES.....	27

ABREVIATIONS ET SIGLES

AC	Agent Communautaire
ACT	Artemisinin Combined Therapy
ADRA	Adventist development and relief service
AID	Aspesrion Intradomiciliaire
ASAQ	Artesunate + Amodiaquine
BM	Banque Mondiale
CAID	Campagne d'Aspersion Intra-domiciliaire
CICM	Centre d'Infectiologie Charles Mérieux
CSB	Centre de Santé de Base
CQ	Chloroquine
DA	Dépistage Actif
DP	Dépistage Passif
ECT	Echec Clinique Tardif
EDSMD	Enquête Démographique et Sociale Madagascar
ETP	Echec Thérapeutique Précoce
GB	Globule Blanc
Hb	Hémoglobine
HRP2I	Histidine Rich Protein 2
HTC	Hautes Terres Centrales
Hte	Hématocrite
J	Jour
ligne « C »	ligne Contrôle
MILD	Moustiquaire avec Insecticide de Longue durée
MPR	Malaria Program Review
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONG	Organisme Non Gouvernemental
PCEFS	Prise en Charge des enfants au niveau Formation Sanitaire
PECADOM	Prise en Charge à Domicile
PID	Pulvérisation Intra-domiciliaire
pLDH	parasite Lactate Deshydrogenase
PNLP	Programme National de Lutte Contre le Paludisme
RCPA	Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate
TDR	Test de Diagnostic Rapide
RTM	Reggio Terzzo Mondo
SIG	Système d'Information Géographique
TPIp	Traitement Préventif Intermittent
UNICEF	The United Nations Children's Fund
USAID	United States Agency for International Development
VPN	Valeur Prédictive Négative
VPP	Valeur Prédictive Positive

1. INTRODUCTION

Dans la plupart des pays africains, la grande majorité des cas de paludisme non compliqué sont vus et traités en dehors du système de santé (2), le plus souvent avec des antipaludiques achetés auprès des pharmacies, des dépôts de médicaments ou des épiceries (3). Ceci est particulièrement vrai pour les populations les plus pauvres, le plus souvent sous éduquées et vivant dans les zones les plus reculées, sans accès direct aux services de santé du pays (4). Ce comportement d'automédication présente néanmoins l'avantage de retarder le délai entre le début de la fièvre et la prise du traitement, et par là même de diminuer les risques de complications ou de mortalité (5, 6)

En 2000, lors du sommet d'Abuja, les chefs d'états africains ont demandé que des mesures soient prises pour que d'ici 2005, au moins 60% des cas de paludisme soient pris en charge en moins de 24 heures par un traitement antipaludique efficace. Depuis lors, le mouvement « Roll Back Malaria » s'est efforcé de promouvoir la mise en place de la prise en charge des fièvres au niveau communautaire (Home-Based Management, HBM) comme « une intervention simple et efficace, mettant les antipaludiques à la disposition des mères ou de la communauté ».

A Madagascar, l'introduction de la prise en charge à domicile (PECADOM) dans le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) date de 1998, avec la mise à disposition de la chloroquine au niveau communautaire via les dispensateurs sanitaires, communautaires ou scolaires (5). Depuis 2003, la chloroquine préemballée (PaluStop®) a été introduite via le canal du marketing social au prix de 50 ariary (0,04 €), dans la stratégie de prise en charge à domicile, afin d'améliorer l'observance du traitement. Enfin, depuis mars 2005, une autre chloroquine préemballée connue sous le nom de Ody Tazomoka® est aussi distribuée gratuitement à travers les Centres de Santé de Base (7). Depuis 2005, en raison de l'apparition et de la propagation des souches plasmodiales résistantes à la chloroquine (8), la nouvelle politique nationale en matière de lutte contre le paludisme préconise l'abandon de la chloroquine et l'utilisation de la combinaison « artésunate + amodiaquine » en première intention dans le traitement du paludisme non compliqué. Si l'efficacité de la stratégie de prise en charge du paludisme au niveau communautaire n'est pas remise en cause à Madagascar (6), le remplacement au niveau communautaire de la chloroquine par les ACT suscite plusieurs inquiétudes (2, 4). Elles concernent notamment la

faisabilité et l'acceptabilité par la communauté de l'utilisation des ACT, le niveau d'observance au traitement et la qualité des informations délivrées par les AC, le risque potentiel d'augmentation de la résistance des parasites du fait de l'utilisation non supervisée des ACT, le coût des traitements et le risque de rupture d'approvisionnement des laboratoires pharmaceutiques. Il est évident que dans les pays comme Madagascar où le budget de la santé est extrêmement limité, la distribution aveugle (sans diagnostic biologique préalable) des ACT risque d'augmenter les dépenses en matière de traitement du paludisme au détriment d'autres interventions comme la lutte anti-vectorielle.

Etant donné que le diagnostic clinique du paludisme n'est pas spécifique (fièvre n'est pas égale à paludisme) et que l'on estime en pratique que les médecins surestiment le paludisme dans 61% des cas (IC95% 28-96%)(4), il paraît peu probable que les agents communautaires (AC) fassent mieux dans ce contexte. Il paraissait donc intéressant d'évaluer l'intérêt de l'utilisation des tests de diagnostic rapide (TDR) du paludisme dans la stratégie de prise en charge des fièvres au niveau communautaire comme le préconise le « Special Program for Research & Training in Tropical Diseases » (TDR) (3). La mise en place d'un diagnostic biologique possède l'avantage de ne traiter que les cas de paludisme confirmé. Cependant, l'utilisation des RDT a également des contraintes opérationnelles et financières. Il est ainsi nécessaire d'effectuer une étude préalable pour établir le rôle du RDT dans le contexte de la prise en charge des fièvres au niveau communautaire, basée sur la faisabilité, l'acceptabilité et la rentabilité de son utilisation au niveau de communauté.

Dans ce contexte, le principal objectif de ce travail a été **d'étudier la stratégie de prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans au niveau communautaire.**

Pour répondre à cette question, nous avons établi et suivi deux cohortes d'enfants âgés de moins de 5 ans, l'une dans deux villages du district de Manakara et deux villages du District de Moramanga et l'autre dans sept villages de la commune d'Ampasimanjeva dans le district de Manakara. Pour évaluer la stratégie de prise en charge, trois objectifs spécifiques ont été abordés, à savoir,

(i) l'étude de l'efficacité thérapeutique de la combinaison fixe « artesunate-amodiaquine »,

(ii) l'évaluation de la performance des tests de diagnostic rapide utilisés au niveau communautaire, et

(iii) la description de l'épidémiologie du paludisme au niveau communautaire et l'évaluation de l'impact des stratégies de lutte actuellement mises en œuvre.

2. CONTEXTE ET REVUE DE LITTÉRATURE

2.1. Généralités sur le paludisme

Le **paludisme** (du latin *paludis*, « marais »), aussi appelé **malaria** (de l'italien *mal'aria*, « mauvais air » terme privilégié par les Anglo-saxons), est une maladie infectieuse due à un parasite du genre *Plasmodium*, propagée par la piqûre de certaines espèces de moustiques du genre *Anophèles*.

2.1.1. Etiologie du paludisme

La cause de la maladie a été découverte le 6 novembre 1880 à l'hôpital militaire de Constantine (Algérie) par un médecin de l'armée française, Alphonse Laveran, qui reçut le prix Nobel de physiologie en médecine en 1907. C'est en 1897 que le médecin anglais Ronald Ross (prix Nobel en 1902) prouva que les moustiques du genre *Anophèles* étaient les vecteurs du paludisme (jusqu'à cette date, le mauvais air émanant des marécages était tenu responsable de la propagation de la maladie).

Le paludisme est provoqué par un parasite protozoaire du genre *Plasmodium* (*Phylum apicomplexa*) (9). Chez les humains, le paludisme est, principalement, causé par *P. falciparum* (prépondérant en régions tropicales), *P. malariae*, *P. ovale* (espèce la plus rare, hormis en Afrique de l'Ouest) et *P. vivax* (espèce la moins exigeante en température et la plus répandue dans le monde).

P. falciparum est la cause la plus commune des infections et responsable d'environ 80 % des cas de paludisme ainsi que de 90 % des décès (10, 11). Les *Plasmodium* infectent également les oiseaux, les reptiles, les singes, les chimpanzés et autres mammifères, y compris les rongeurs dont les parasites servent de modèles à la compréhension du paludisme (12). On a rapporté des cas d'infections humaines à partir d'espèces de *Plasmodium* infectant les primates non-humains, dont *P. knowlesi*, *P. inui*, *P. cynomolgi*, *P. simiovale*, *P. brazilianum*, *P. schwetzi* et *P. simium*(13). Cependant, à l'exception de *P. knowlesi* (qui sévit uniquement en Asie du Sud Est), ces infections restent limitées et sont d'une importance limitée en termes de santé publique.

2.1.2. Cycle Biologique des *Plasmodium* (14-19)

Le parasite est transmis à l'homme par l'anophèle femelle lors du repas sanguin. Le stade infectieux du parasite, appelé **sporozoïte**, est introduit dans la circulation sanguine humaine. Très vite, les sporozoïtes disparaissent de la circulation et infectent les hépatocytes. Dans les cellules du foie, les sporozoïtes se multiplient pour former des **schizontes pré-érythrocytaires**, qui contiennent chacun des milliers de **mérozoïtes**. Les mérozoïtes libérés envahissent les érythrocytes où ils continuent le stade asexué du cycle. Les signes cliniques ne sont observés qu'à partir du moment où le cycle intra-érythrocytaire est en place. Le parasite à l'intérieur des hématies récemment envahies est nommé **stade anneau**. Les anneaux deviennent ensuite des **trophozoïtes** qui, par divisions asexuées, vont donner des **schizontes** contenant 8 à 24 mérozoïtes. Les mérozoïtes sont ensuite libérés et envahissent de nouvelles hématies. Les **gamétocytes**, la forme sexuée différenciée du parasite, se développent à partir de certains mérozoïtes. Le moustique est infecté par les gamétocytes mâle et femelle, au moment d'un repas sanguin sur un hôte infecté. Dans l'intestin moyen du moustique, les **microgamètes** fertilisent les **macrogamètes** (stades extra-érythrocytaires sexués) résultant en un **ookinète zygotique** (diploïde). Les ookinètes traversent la paroi de l'intestin et forment des oocystes qui vont se transformer en de nombreux **sporozoïtes** (haploïde). Les sporozoïtes migrent jusqu'aux glandes salivaires du moustique, prêts à démarrer un nouveau cycle au prochain repas sanguin.

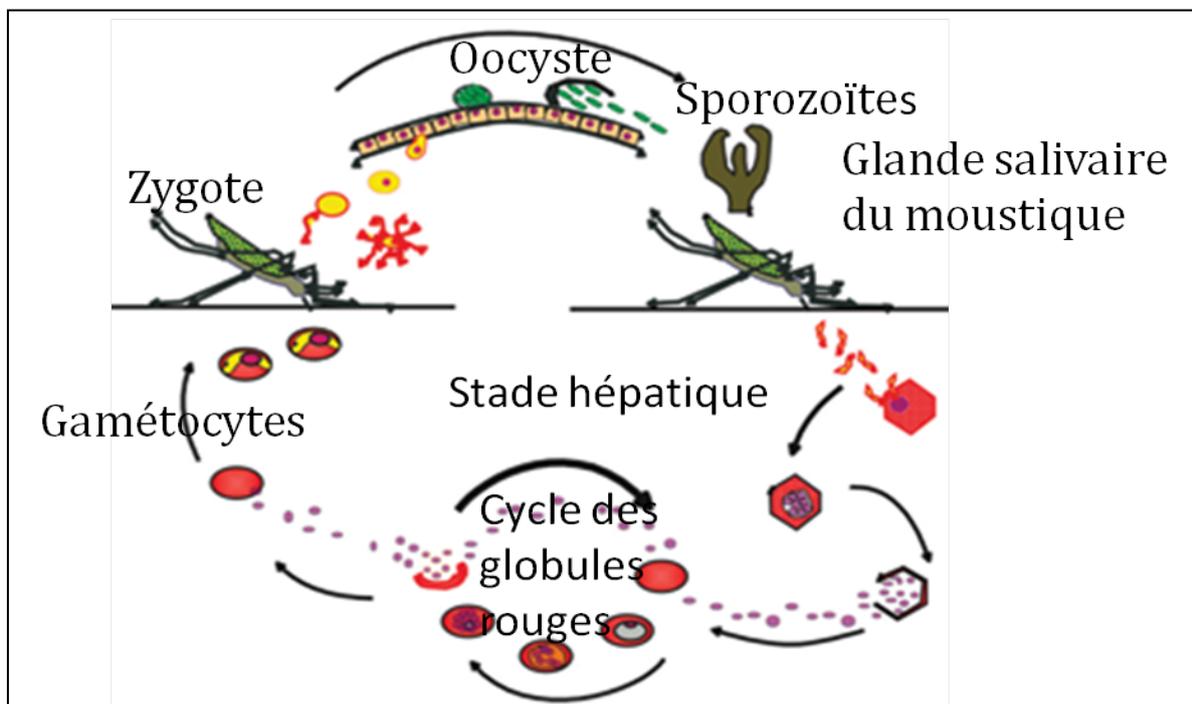


Figure 1: Cycle biologique simplifié des *Plasmodium* (source : www.caducee.net)

2.1.3. La lutte contre le paludisme

Les chiffres réels concernant la prévalence et l'incidence du paludisme ne sont pas connus pour deux raisons majeures : i) le paludisme sévit en milieu rural, souvent loin des centres de santé comptabilisant les cas de paludisme ; ii) du fait de l'absence quasi générale jusqu'à présent d'un diagnostic parasitologique de certitude permettant de certifier la liaison entre fièvre et infection palustre. Les chiffres avancés représentent donc des estimations. Quoiqu'il en soit, avec 225 millions de personnes malades et 781 000 décès en 2009 (20), le paludisme représente la première parasitose à l'échelle mondiale. Environ 80 % des cas sont enregistrés dans les milieux ruraux de l'Afrique subsaharienne. La grande majorité des victimes sont des enfants de moins de 5 ans (21). Les femmes enceintes représentent également un des principaux groupes affectés par le paludisme car le placenta constitue une cible où les parasites (et en particulier *P. falciparum*) ont la capacité de s'accumuler. Si le paludisme a pu être éradiqué dans les pays industrialisés à faible transmission grâce au traitement systématique des cas et à la pulvérisation d'insecticides, les faibles moyens économiques des pays en développement, l'intensité de transmission de la maladie, et l'émergence rapide des poly-chimiorésistances, ont entraîné une recrudescence des cas de morbidité et de mortalité dans les années 1990 (22). En Afrique, le paludisme est présent aussi bien dans les zones rurales qu'urbaines, même si le risque est diminué dans les grandes villes par l'urbanisation, la pollution ou l'assainissement (23). Les niveaux endémiques mondiaux de la maladie n'ont pas été cartographiés depuis les années 1960. Cependant, depuis quelques années, un projet de cartographie (Malaria Atlas Project – MAP – <http://www.map.ox.ac.uk>), financé par le Wellcome Trust (21) permet d'actualiser les données sur le poids de cette maladie.

Créée en 1998, le Partenariat Roll Back Malaria (RBM) a établi un cadre mondial visant à mettre en œuvre une action coordonnée contre le paludisme. Il mobilise les actions et les ressources et forge un consensus entre les partenaires. Le partenariat se compose de plus de 500 partenaires regroupant les pays endémiques, leurs partenaires de développement bilatéraux et multilatéraux, le secteur privé, des organisations non gouvernementales et communautaires, des fondations, ainsi que des institutions du monde universitaire et de la recherche. La stratégie globale du partenariat RBM vise à réduire la mortalité et la morbidité associées au paludisme par le biais d'une couverture universelle et d'un renforcement des systèmes de santé. D'après le Plan mondial de lutte contre le paludisme, deux étapes sont nécessaires pour contrôler la maladie : (i) élargir les interventions préventives et thérapeutiques pour un impact réel (SUF), et (ii) assurer un contrôle régulier sur la durée.

Des objectifs pour contrôler le paludisme par le biais de la mise en place des stratégies de lutte recommandés par l'OMS ont été définis en plusieurs étapes (2010, 2015 et au-delà) (20, 24) :

D'ici 2010 : (i) 80 % des personnes exposées au risque de paludisme utiliseront des méthodes de lutte anti-vectorielle adaptées au contexte local comme les moustiquaires imprégnées d'insecticide longue durée (MILD) (25, 26), la PID (27, 28) et, dans certains contextes, d'autres mesures environnementales et biologiques (ii) 80 % des patients atteints de paludisme seront diagnostiqués et recevront un traitement antipaludique efficace (iii) dans les zones de transmission élevée, 100 % des femmes enceintes recevront pendant leur grossesse un traitement préventif intermittent (TPIp) (29).

D'ici 2015 : La couverture universelle se poursuivra avec des interventions efficaces :

(i) La mortalité mondiale et nationale sera proche de zéro dans tous les cas évitables (ii) L'incidence mondiale sera réduite de 75 % par rapport aux niveaux de 2000, moins de 85 à 125 millions de cas par an (iii) L'Objectif du Millénaire pour le Développement en matière de paludisme sera atteint : stopper et inverser l'incidence du paludisme; (iv) Au moins 8 à 10 pays actuellement engagés dans la phase d'élimination auront atteint une incidence d'infection localement transmise égale à zéro.

Après 2015 : (i) La mortalité mondiale et nationale restera proche de zéro dans tous les cas évitables ; (ii) La couverture universelle (reflétant une utilisation d'environ 80 %) sera maintenue pour l'ensemble des populations à risque jusqu'à ce que les recherches menées sur le terrain laissent suggérer qu'elle peut être progressivement limitée aux zones et saisons associées à un risque élevé, sans risque de réapparition généralisée ; (iv) Les pays actuellement engagés dans la phase de pré-élimination atteindront l'élimination. La mortalité due au paludisme sera réduite de 50 % par rapport aux niveaux de 2000, soit moins de 175 à 250 millions de cas et 500 000 décès par an.

Les fonds d'origine internationale consacrés à la lutte antipaludique ont fortement augmenté au cours de la dernière décennie. C'est en 2009 que les dépenses ont atteint le montant le plus élevé jamais observé avec un total de 1,5 milliard US\$, mais les nouveaux engagements en faveur de la lutte antipaludique ont visiblement stagné en 2010, avec un montant de 1,8 milliard US\$ (20). À l'heure actuelle, le paludisme peut être évité, diagnostiqué et traité par une combinaison d'outils. Les principaux outils de prévention sont

les moustiquaires imprégnées d'insecticide longue durée (MILD), la pulvérisation intradomiciliaire d'insecticides à effet rémanent (PID), qui consiste à pulvériser des insecticides sur les murs des habitations et le traitement préventif intermittent des femmes enceintes (TPIp) afin de prévenir les infections palustres dans les zones de forte transmission. D'autres mesures de lutte anti-vectorielle (ex. traitement larvicide, gestion de l'environnement) basées sur des preuves scientifiques sont utilisées lorsqu'elles sont pertinentes. Les médicaments et les outils de diagnostic sont utilisés dans le cadre de la prise en charge des cas de paludisme. Le paludisme peut être confirmé par un diagnostic parasitologique, soit à l'aide de la microscopie, soit à l'aide d'un test de diagnostic rapide (TDR). Pour contrer les résistances aux monothérapies, les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (ACT) sont à présent recommandées pour le traitement du paludisme à *P. falciparum*. La chloroquine (CQ) et la primaquine (PQ) (seule thérapie efficace contre les formes latentes hépatiques, les hypnozoïtes, responsables des recrudescences) restent le traitement de choix du paludisme à *P. vivax* ou *P. ovale*, qui restent pour l'instant globalement sensibles à la chloroquine.

Suite à l'interruption prématurée d'une campagne mondiale d'éradication du paludisme menée dans les années 1950-1970, le paludisme n'a fait l'objet que de peu d'attention jusqu'à l'étendue mondiale de la résistance à la chloroquine et par la suite aux autres antipaludiques utilisés en monothérapie. Au cours de la dernière décennie, des progrès significatifs ont été réalisés en termes de lutte et de sensibilisation par rapport au paludisme. Plusieurs pays ont démontré qu'il était possible de réduire de façon significative la morbidité et la mortalité palustre. À titre d'exemple, suite à l'obtention d'une couverture élargie grâce aux MILD et aux ACT, le nombre de cas de paludisme et de décès liés au paludisme dans les établissements de santé rwandais a diminué de plus de 50 %. Des résultats similaires ont été obtenus en Érythrée, à Sao Tomé-et-Principe et à Zanzibar (République unie de Tanzanie) (30).

On estime que le nombre de cas de paludisme est passé de 233 millions en 2000 et à 244 millions en 2005, mais qu'il a reculé à 225 millions en 2009. Selon les estimations, le nombre de décès imputables au paludisme a reculé de 985 000 en 2000, à 781 000 en 2009. Une baisse de la morbidité palustre a été observée dans toutes les Régions de l'Afrique. Proportionnellement, la baisse de la morbidité a été la plus marquée en Europe, suivie par les Amériques, mais c'est en Afrique que le nombre de décès a le plus reculé. Cependant, même si la réduction de la morbidité palustre a remarquablement progressé, nous avons les preuves d'une augmentation du nombre de cas de paludisme dans 3 pays en 2009 (Rwanda, Sao Tome-et-Principe, Zambie) (12). Les raisons de cette résurgence ne sont pas

connues avec certitude. Quoi qu'il en soit cela souligne la fragilité des acquis de la lutte antipaludique et la nécessité de maintenir les programmes de lutte même si le nombre de cas recule sensiblement. Ce qui s'est passé au Rwanda et en Zambie montre également qu'un contrôle mensuel des données fournies par la surveillance de la morbidité, tant au niveau national qu'au niveau régional, est essentiel. Beaucoup de pays de l'Afrique Subsaharienne n'ayant pas suffisamment de données pour suivre les tendances de la morbidité, il est clair que de grands efforts sont encore à faire pour renforcer les systèmes de surveillance systématique. Des événements épidémiologiques majeurs pourraient se produire dans d'autres pays sans être décelés ni soumis à l'investigation. Les statistiques précises sont difficiles à obtenir, en raison de la prévalence de la maladie dans les zones rurales, où les gens n'ont pas accès à un hôpital ou aux moyens de se soigner. La plupart des cas ne sont pas documentés (28, 29).

2.2. Le paludisme à Madagascar

2.2.1. Situation démographique, administrative, sanitaire de Madagascar (26)

Située entre 11°57' et 25°30' de latitude Sud et entre 43°14' et 50°27' de longitude Est, à cheval sur le tropique du Capricorne, Madagascar se trouve dans le Sud-ouest de l'Océan Indien, séparée de la côte de l'Afrique par le canal de Mozambique. Avec ses 587 401 km² de superficie, Madagascar apparaît comme une véritable île continentale. Le pays présente un relief très accentué fait de chaînes montagneuses au centre, de bassins ou de plaines d'effondrement sur les Hautes Terres Centrales (HTC), de zones de falaises surplombées par un long escarpement à l'est, de vastes plaines alluviales à l'ouest et un ensemble de plateaux gréseux et de plaines de sable au Sud. Sur les HTC, le climat est tempéré avec deux saisons bien différenciées : une saison sèche et une saison pluvieuse. La façade orientale au climat équatorial est généralement arrosée toute l'année. La façade occidentale est caractérisée par un climat tropical avec la partie sud-ouest plutôt aride. Les régions du Sud ont un climat subdésertique.

La population est estimée à 18 millions d'habitants. L'EDSMD-III 2003-2004 (31) rapporte un taux brut de natalité de 45,1 pour 1000, un taux de mortalité infantile de 58 pour 1000, un taux d'accroissement annuel de 2,8%. La densité moyenne est de 21 habitants/km² avec une répartition inégale entre les régions. Environ 30% de la population vit en milieu urbain et 70% en milieu rural. Le nombre d'enfants de moins de 5 ans est estimé à 3 millions (18%) dont 700 000 (4%) de moins d'un an et celui des femmes enceintes est autour de 800 000 (4,5%).

Le pays compte 22 régions, divisées en 115 districts, 1597 communes et 13652 fokontany. L'administration est en cours de décentralisation pour donner plus de décisions au niveau des communes et des villages. Le système de santé s'articule avec la structure administrative. Il a 4 niveaux bien distincts et fonctionnels :

- **Le Niveau Central** définit l'orientation globale de la politique nationale de lutte contre le paludisme, les grands axes stratégiques et leur mise en œuvre.
- **Le Niveau Régional** coordonne son exécution et sa mise en œuvre au niveau de la région et ses districts sanitaires de rattachement.
- **Le Niveau District** constitue le niveau périphérique qui est la plaque tournante assurant toutes les activités de lutte au niveau des Centres Hospitaliers et des Centres de Santé

de Base. Ces formations sanitaires assurent les activités curatives, préventives et promotionnelles.

- **Le Niveau communautaire** constitue la base du système. C'est à la fois un acteur et un bénéficiaire. Au niveau communautaire, une grande partie de la population est privée d'offre de soins. En effet, il est estimé que seulement deux personnes sur cinq reçoivent des soins en cas de maladie. L'accès géographique aux centres de santé reste limité dans les zones rurales en raison de l'absence de réseau routier. Une cartographie effectuée en 2004 a révélé qu'environ 30% de la population habite dans un rayon de plus de 5 kms de distance d'un centre de santé publique. Les barrières financières sont aussi une des causes majeures de la faible utilisation des services de santé.

Madagascar dispose également d'un important secteur privé qui fait partie intégrante du système de santé. Plus de 1500 médecins exercent dans le secteur privé, au sein des 21 hôpitaux privés de districts ou des 350 centres de santé privés ou affiliés aux organisations religieuses. Il existe également un secteur pharmaceutique privé avec un réseau de 22 grossistes pharmaceutiques, 200 officines et plus de 1000 dépôts de médicaments (32)

Le défi est grand pour l'amélioration des services de santé en termes de quantité, de qualité, de motivation du personnel de santé et de la gestion des structures sanitaires. Une des contraintes dans la mise en œuvre du présent plan est l'insuffisance de personnel, surtout au niveau périphérique, et la motivation du personnel de santé.

2.2.2. Situation épidémiologie du paludisme (33)

Deux profils épidémiologiques majeurs sont décrits à Madagascar :

- Un profil où le paludisme est stable, avec une transmission pérenne le long des côtes où vit presque la moitié de la population malgache. Les plus vulnérables sont les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes.
- Un profil où le paludisme est instable, sur les Hautes Terres Centrales et dans le sud subdésertique. Du fait de la précarité de la prémunition acquise, toute la population est à risque .

2.2.2.1. Les différents faciès épidémiologiques

Différents faciès épidémiologiques de transmission du paludisme sont décrits, résultant de la situation géographique et de la variété des climats observés au sein du pays. La répartition du paludisme à Madagascar est caractérisée par son hétérogénéité, conséquence des

variations régionales en termes de pluviométrie, température et altitude. Quatre faciès épidémiologiques distincts sont clairement définis en fonction de la durée et de l'intensité de la transmission.

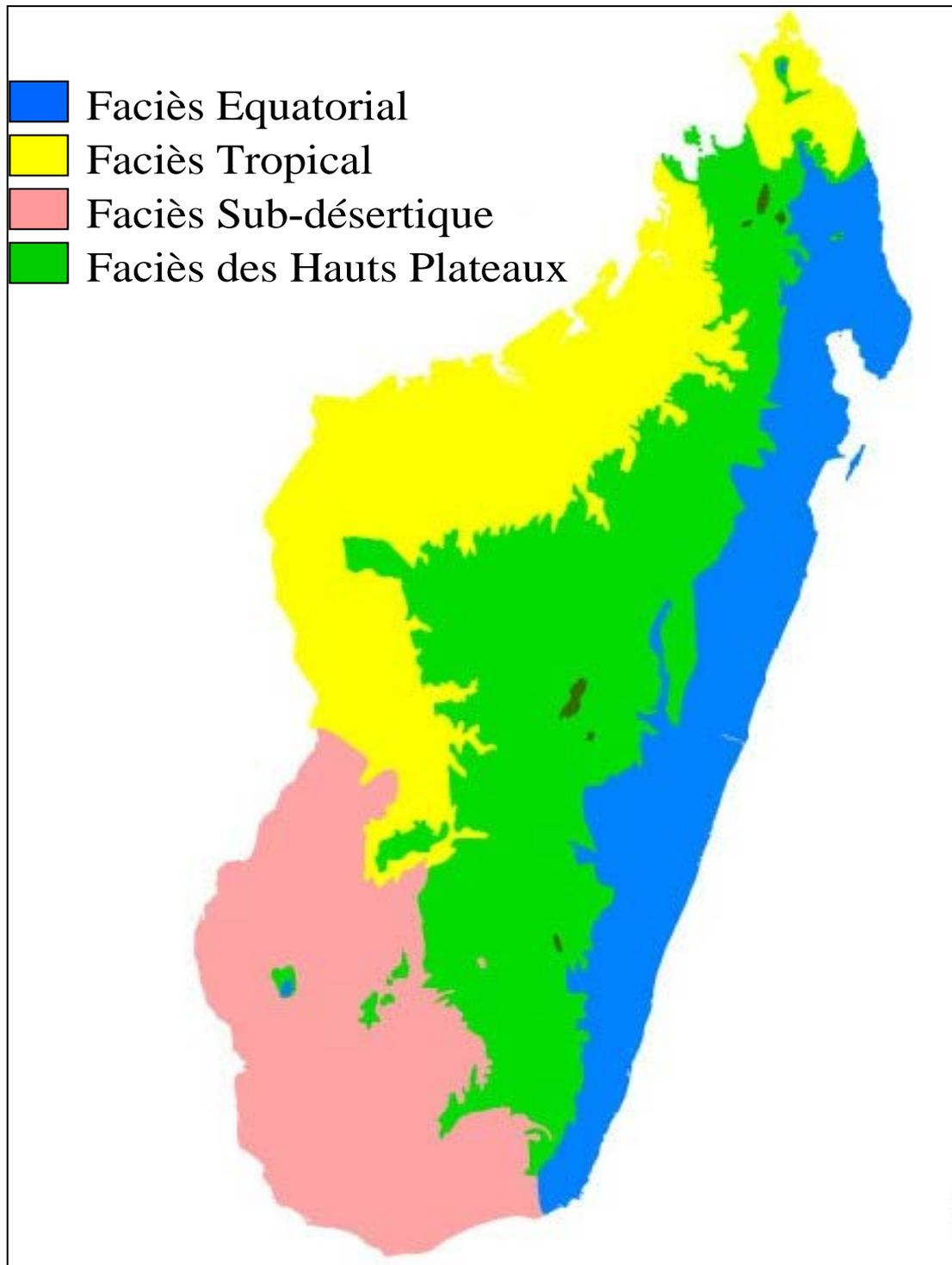


Figure 2: *Faciès épidémiologique du paludisme (32)*

Le faciès Equatorial (Côte Est)

Ce faciès se caractérise par une transmission forte et pérenne tout au long de l'année. Les manifestations cliniques apparaissent surtout chez les enfants de moins de 10 ans. Le paludisme grave touche essentiellement les moins de 5 ans alors que les adultes témoignent d'une faible morbidité due à l'acquisition d'une prémuniton. Le niveau d'endémie au niveau de ce faciès varie de l'hyperendémie à l'holoendémie. Les principaux vecteurs sont *Anopheles gambiae ss* et *Anopheles funestus*.

Le faciès Tropical (Côte Ouest)

Il est caractérisé par une transmission saisonnière longue, pendant la saison des pluies, de plus de 6 mois par an à l'origine d'un paludisme stable. La prémuniton est plus tardive par rapport à la Côte Est. Trois espèces vectrices sont présentes: *Anopheles gambiae ss*, *Anopheles arabiensis* et *Anopheles funestus*.

Le faciès Sub-désertique (Sud)

La transmission épisodique et courte (moins de 4 mois) dans le Sud du pays coïncide avec la saison des pluies. *Anopheles arabiensis* est le seul vecteur présent. Le paludisme instable prend des allures épidémiques certaines années, touchant sévèrement toutes les classes d'âge. Les habitants sont sensibles aux accès cliniques durant toute leur vie.

Le faciès « des Hauts Plateaux » (HTC)

La transmission du paludisme est assurée par *Anopheles arabiensis* et *Anopheles funestus*, la première espèce étant plus largement étendue que la seconde. Il n'y a pas de transmission pendant la saison froide (juin à août). Le paludisme saisonnier est instable, avec risque d'épidémies meurtrières du fait de l'absence de prémuniton de la population, mais il peut acquérir une certaine stabilité dans des cuvettes au climat plus clémente comme la région du lac Itasy ou d'Ankazobe. Au-dessus de 1500 m, la transmission est exceptionnelle.

Autres faciès particuliers

Les grandes villes comme Antananarivo, constituent une zone écologique particulière. La transmission peut exister au niveau des zones périurbaines alors qu'au centre, elle est très faible du fait des conditions particulières des gîtes larvaires urbains. Un risque de transmission subsiste avec possibilité d'épidémie.

Les zones de haute altitude, supérieure à 1 500 mètres sont caractérisées par une situation épidémiologique à transmission minimale ou même nulle. On se trouve ici en zone de paludisme importé surtout à partir des régions côtières. Cependant le risque épidémique n'est pas nul si les conditions de transmission sont réunies au cours de la saison chaude et pluvieuse.

Sur les Marges des Hautes Terres Centrales, la situation épidémiologique reste intermédiaire entre les HTC et les côtes du pays. Ces marges sont caractérisées par: (i) une altitude comprise entre 800 m et 900 m et (ii) une transmission, bien que saisonnière, rythmée par la pluie et la température, également intermédiaire entre la zone à risque épidémique des HTC et la zone holoendémique des côtes.

2.2.2.2. Les espèces plasmodiales présentes

Les 4 principales espèces plasmodiales pouvant infecter l'homme (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malariae*) sont présentes sur la grande île, avec une prédominance de *P. falciparum* (~ 90%).

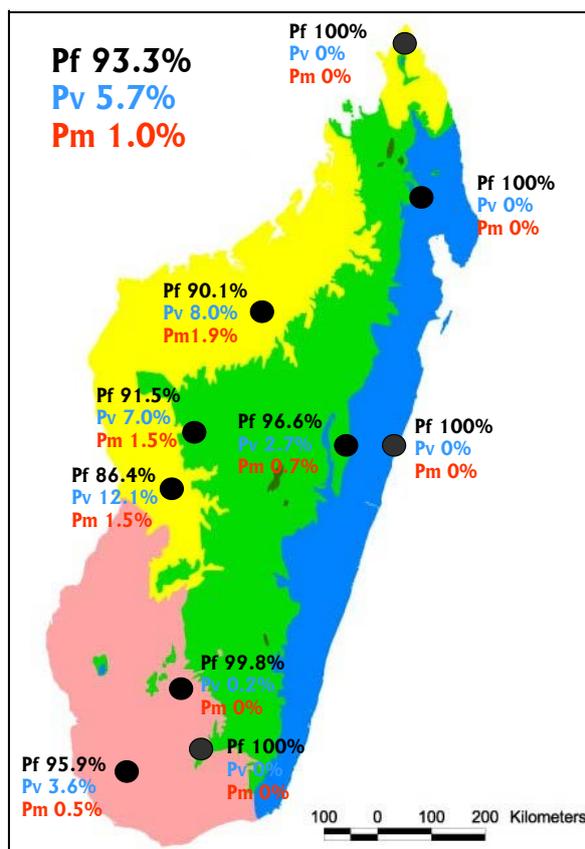


Figure 3 : Répartition des espèces plasmodiales à Madagascar (1)

2.2.2.3. Répartition des vecteurs

Sur les 26 espèces d'Anophèles présentes à Madagascar, seules 4 sont potentiellement vectrices.

- ***Anopheles gambiae sensu stricto*** : Vecteur très efficace, il est anthropophile, endophage et exophile ; ce qui le rend moins accessible aux pulvérisations intradomiciliaires d'insecticide. Il se retrouve surtout dans les zones inférieures à 1000 mètres d'altitude. Ses gîtes sont des nappes d'eaux temporaires ensoleillées et sans végétation (mares, flaques d'eau, ornières, ..).
- ***Anopheles arabiensis*** : Très présente à Madagascar, cette espèce abonde sur les HTC et sur les marges à partir de 800 à 900 mètres d'altitude. Cette espèce endophage et exophile joue un rôle prépondérant dans le paludisme instable. Ses gîtes larvaires sont des collections d'eaux temporaires peu ombragées à végétation basse, elle est de ce fait liée aux pluies et à la riziculture en début de croissance.
- ***Anopheles funestus*** : Ses larves se développent dans les eaux semi-permanentes ou permanentes à végétation dressée comme les rizières en phase d'épiaisons qui constituent les gîtes principaux. Le pic d'abondance d'*Anopheles funestus* suit celui d'*Anopheles arabiensis*. Très endophile, cette espèce est particulièrement bien contrôlée par la pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide rémanent (quasi disparition des HTC après les opérations insecticide des années 50). Il a été rendu responsable des épidémies meurtrières de la fin des années 80.
- ***Anopheles mascarensis*** : Espèce identifiée, il y a à peine une dizaine d'années, endémique à Madagascar, elle a été mise en évidence dans seulement 2 sites (Sainte Marie et Tolagnaro). Largement zoophile, elle pique également l'homme lorsque le bétail est rare. Les gîtes larvaires sont constitués par des plans d'eau renouvelables (rizières repiquées, canaux d'irrigation).

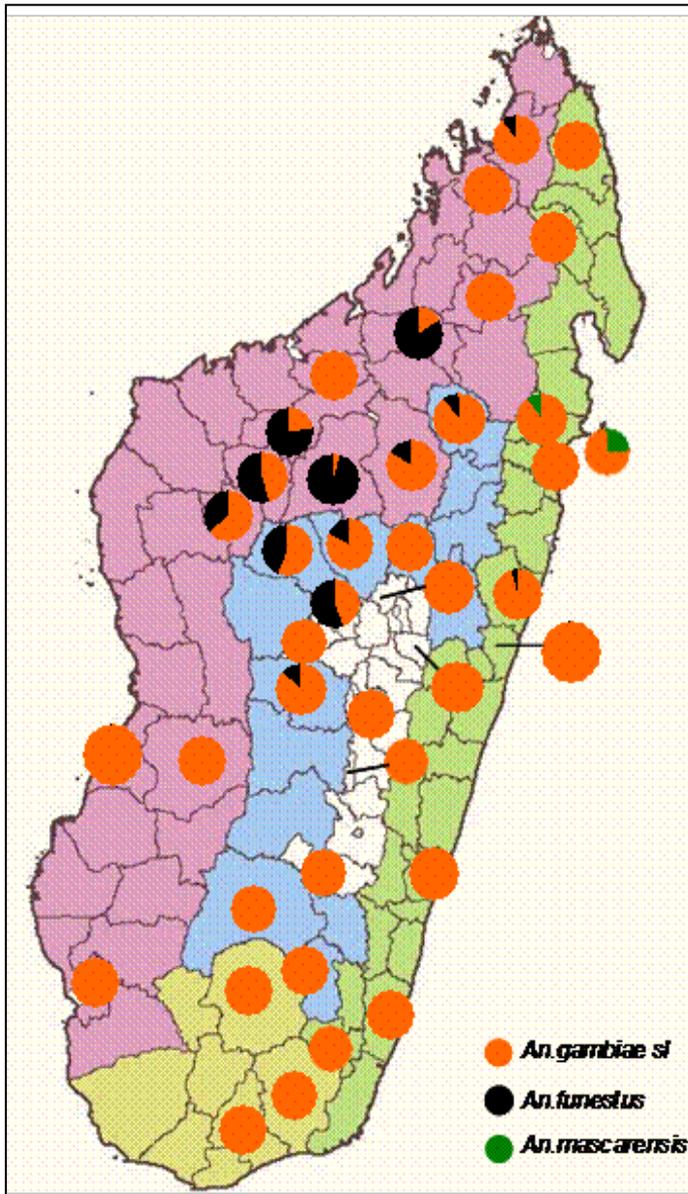


Figure 4: Répartition des vecteurs du paludisme (Source Atlas Paludisme, IPM)

2.2.3. Contexte historique et actuelle de la lutte contre le paludisme à Madagascar

2.2.3.1. Principales étapes résumant la lutte contre le paludisme à Madagascar

- **1800:** Le paludisme est connu à Madagascar.
- **1887:** Une épidémie mortelle se déclare et coïncide avec la généralisation de la culture du riz et l'introduction de la main d'œuvre venant du continent Africain.
- **1895:** La quinine est introduite par l'armée Française.
- **1895:** Des épidémies mortelles éclatent parmi les ouvriers construisant le chemin de fer entre Antananarivo et la Côte Est de Madagascar.
- **1920-1930:** Des larvicides chimiques et des poissons larvivores sont introduits à petite échelle.
- **1921 :** Création du premier service de contrôle du paludisme à l'échelle nationale et mise en place d'études permettant de comprendre la survenue des épidémies.
- **1949-1962:** Création d'un programme national d'éradication du paludisme.
- **1962:** Diminution progressive des activités du programme national d'éradication.
- **1987:** Apparition d'une épidémie mortelle de paludisme est appelée « Bemangovitra » sur les hauts plateaux en relation avec le relâchement de la lutte et la négligence des activités de surveillance associés à un contexte socio-économique difficile.
- **1988:** Introduction des Campagnes d'Aspersion Intra-Domiciliaire d'insecticides (CAID) et distribution de la chloroquine au niveau communautaire.
- **1997:** Mise en place d'un système de surveillance des épidémies et introduction des CAID ciblées sur les hauts plateaux.
- **1998:** Mise en place d'un nouveau programme national de lutte et élaboration d'une politique nationale de lutte contre le paludisme définissent les principaux axes stratégiques par faciès épidémiologique : prise en charge des cas de paludisme au niveau des formations sanitaires et au niveau communautaire (PECADOM), promotion de l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides, CAID, surveillance épidémiologique et chimioprophylaxie chez les femmes enceintes.
- **2002:** Adhésion au mouvement Roll Back Malaria (RBM).
- **2003-2007:** Mise en place effective des stratégies de lutte grâce à d'importants financements via le Fonds Mondial (Rounds 1, 3 & 4), l'OMS, l'UNICEF, l'Union Européenne, la Banque Mondiale, l'USAID, les Coopérations Italienne, Française, Monégasque, Hollandaise, Allemande et Japonaise.
- **2004:** Introduction du Traitement Préventif Intermittent (TPI) chez la femme enceinte.

2.2.3.2. Indices épidémiologiques du paludisme entre 2000 et 2010

Une revue annuelle de programme du paludisme a eu lieu à Madagascar au mois de juin 2011. Une analyse de la situation du paludisme a été faite par le PNL (Arsène Ratsimbaoa, Clémence Rakotoarivony, Rodisse Andrianasolo, Harintsoa Ravony, Alyssa Finlay, Henintsoa Rabarijaona, Luciano Tuseo, Louise Ranaivo et Benjamin Ramarosandratana, MPR-2011) (34).

La figure 5 présente l'évolution du paludisme en termes de morbidité au cours des 10 dernières années (35).

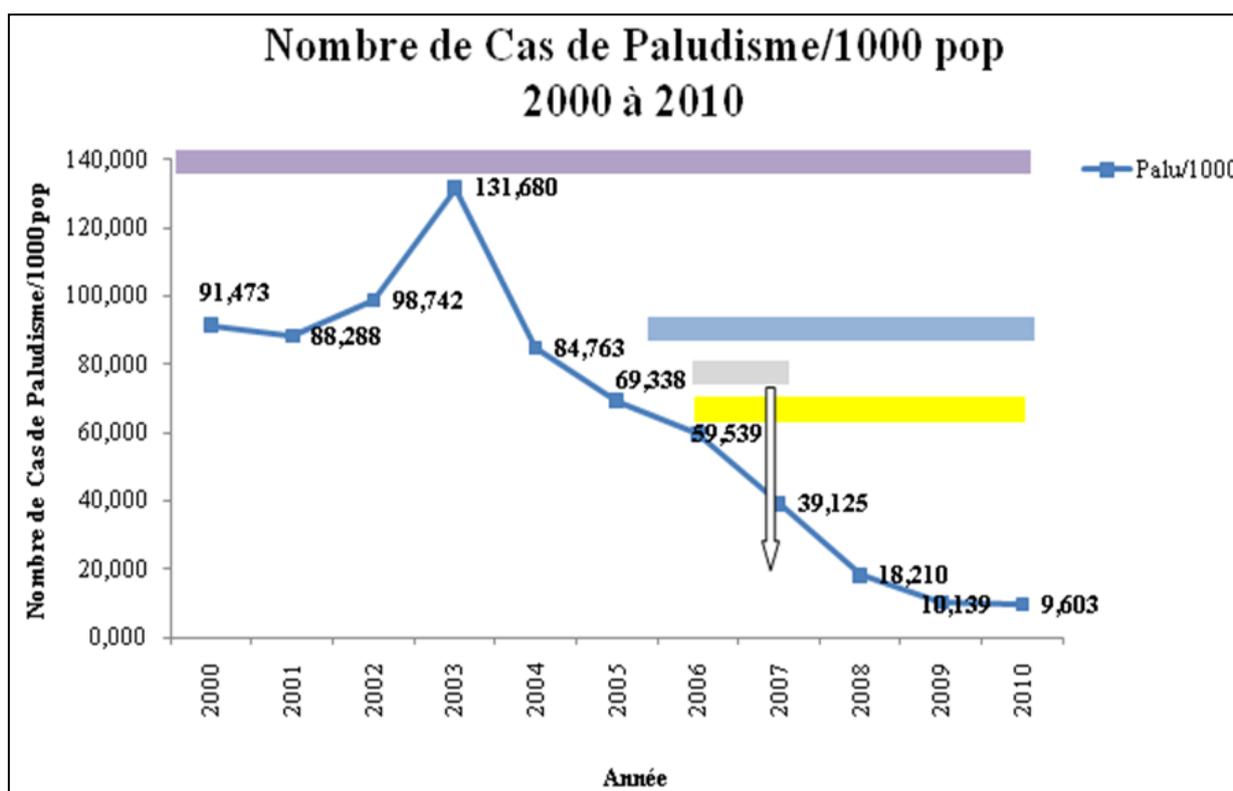


Figure 5: Morbidité due au paludisme exprimée en nombre de cas pour 1000 habitants

La diminution de la morbidité liée au paludisme est observée depuis plusieurs années (91 473 cas en 2000 et 9 603 cas en 2010). Selon les données de l'Annuaire Statistique 2007 à 2010, le paludisme est passé du 2^{ème} au 5^{ème} rang de cause de morbidité tout âge confondu ainsi que chez les enfants de moins de 5 ans. De 2007 à 2009, le paludisme grave et

compliqué qui occupait la première place en termes de mortalité hospitalière est maintenant la 3^{ème} cause. Au niveau des formations sanitaires, les données révèlent que la part de la morbidité palustre parmi les consultants pour fièvre est passée de 21,57% en 2003 à 4,82% en 2010 pour les enfants de moins de 5 ans et de 17,57% à 2,33% en 2010 pour les enfants de plus de 5 ans. Le paludisme représente actuellement la 7^{ème} cause de morbidité au niveau des CSB. Pour la mortalité, le taux est passé de 25,92% à 8,63% pour les enfants de moins de 5 ans et de 13,5% à 2,84% pour les autres enfants plus âgés.

Publié en 2009 dans la revue Malaria Journal, le suivi longitudinale des sujets habitant le village de Saharevo situé sur les marges des HTC a permis de mieux décrire l'épidémiologie du paludisme dans cette zone (voir résumé ci-dessous) :

Rabarijaona LP, Randrianarivelosia M, Raharimalala LA, Ratsimbaoa A, Randriamanantena A, Randrianasolo L, Ranarivelo LA, Rakotomanana F, Rendremanana R, Ratovonjato J, Rason MA, Duchemin JB, Tall A, Robert V, Jambou R, Ariey F, Domarle O. Longitudinal survey of malaria morbidity over 10 years in Saharevo (Madagascar): further lessons for strengthening malaria control. Malar J. 2009 Aug 6;8:190.

Madagascar has been known for having bio-geo-ecological diversity which is reflected by a complex malaria epidemiology ranging from hyperendemic to malaria-free areas. Malaria-related attacks and infection are frequently recorded both in children and adults living in areas of low malaria transmission. To integrate this variability in the national malaria control policy, extensive epidemiological studies are required to up-date previous records and adjust strategies. A longitudinal malaria survey was conducted from July 1996 to June 2005 among an average cohort of 214 villagers in Saharevo, located at 900 m above the sea. Saharevo is a typical eastern foothill site at the junction between a coastal wet tropical area (equatorial malaria pattern) and a drier high-altitude area (low malaria transmission). Passive and active malaria detection revealed that malaria transmission in Saharevo follows an abrupt seasonal variation. Interestingly, malaria was confirmed in 45% (1,271/2,794) of malaria-presumed fevers seen at the health centre. All four *Plasmodia* that infect humans were also found: *Plasmodium falciparum*; *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. Half of the malaria-presumed fevers could be confirmed over the season with the highest malaria transmission level, although less than a quarter in lower transmission time, highlighting the importance of diagnosis prior to treatment intake. *P. falciparum* malaria has been predominant (98%). The high prevalence of *P. falciparum* malaria affects more particularly under 10 years old children in both symptomatic and asymptomatic contexts. Children between two and four years of age experienced an average of 2.6 malaria attacks with *P. falciparum* per annum. Moreover, estimated incidence of *P. falciparum* malaria tends to show that half of the attacks (15 attacks) risk to occur during the first 10 years of life for a 60-year-old adult who would have experienced 32 malaria attacks. The incidence of malaria decreased slightly with age but remained important among children and adults in Saharevo. These results support that a premunition against malaria is slowly acquired until adolescence. However, this claims for a weak premunition among villagers in Saharevo and by extension in the whole eastern foothill area of Madagascar. While the Malagasy government turns towards malaria elimination plans nowadays, choices and expectations to up-date and adapt malaria control strategies in the foothill areas are discussed in this paper.

2.2.4. Stratégies de lutte actuellement mise en place à Madagascar : Interventions par faciès

Les approches stratégiques suivantes ont été définies en tenant compte de l'analyse des gaps stratégiques par strates et de l'approche opérationnelle par stratégie.

Sur les Hautes Terres Centrales

L'objectif est d'interrompre complètement la transmission du paludisme par une couverture généralisée en AID sur trois ans, suivie d'une AID focalisée avec la reconnaissance géographique (SIG) des foyers résiduels nécessitant une aspersion, l'utilisation des ACT dans les formations sanitaires y compris l'utilisation de médicaments permettant le traitement radical des infections à *Plasmodium vivax*, le renforcement de la mobilisation sociale et la mise en place d'une surveillance épidémiologique permettant d'attester le stade de pré-élimination.

Sur les « marges » des Hautes Terres Centrales

L'objectif est d'interrompre complètement la transmission du paludisme par une couverture généralisée en AID sur trois ans, suivie d'une AID focalisée, l'utilisation des ACT dans les formations sanitaires et au niveau communautaire, la distribution de 2 Moustiquaires à Imprégnation Durable par ménage, la mise en place du Traitement Préventif Intermittent chez les femmes enceintes, le renforcement de la mobilisation sociale et la mise en place d'une surveillance épidémiologique permettant de surveiller le risque de réintroduction du paludisme dans les zones où le paludisme a été éliminé.

Dans le Sud-Subdésertique

Les mesures appliquées visent à éliminer le réservoir des parasites et à assurer la protection personnelle des individus contre les vecteurs. Les stratégies mises en place seront les mêmes que celles mises en place sur les marges.

Sur la Côte Ouest

Les stratégies de lutte appliquées dans cette partie du pays viseront à réduire de manière drastique la transmission du paludisme, à éliminer le réservoir des parasites et à assurer la protection personnelle des individus contre les vecteurs. Elles sont identiques à celles mises en place sur les marges.

Sur la Côte Est

Les stratégies de lutte contre le paludisme viseront à éliminer le réservoir des parasites et à assurer la protection personnelle des individus et communautaire contre les vecteurs par une couverture généralisée en AID sur trois ans, suivie d'une AID focalisée, l'utilisation des ACT dans les formations sanitaires et au niveau communautaire, la distribution de 2 Moustiquaires à Imprégnation Durable par ménage, la mise en place du Traitement Préventif Intermittent chez les femmes enceintes, le renforcement de la mobilisation sociale et la mise en place d'une surveillance épidémiologique permettant de surveiller le risque de réintroduction du paludisme dans les zones où le paludisme a été éliminé.

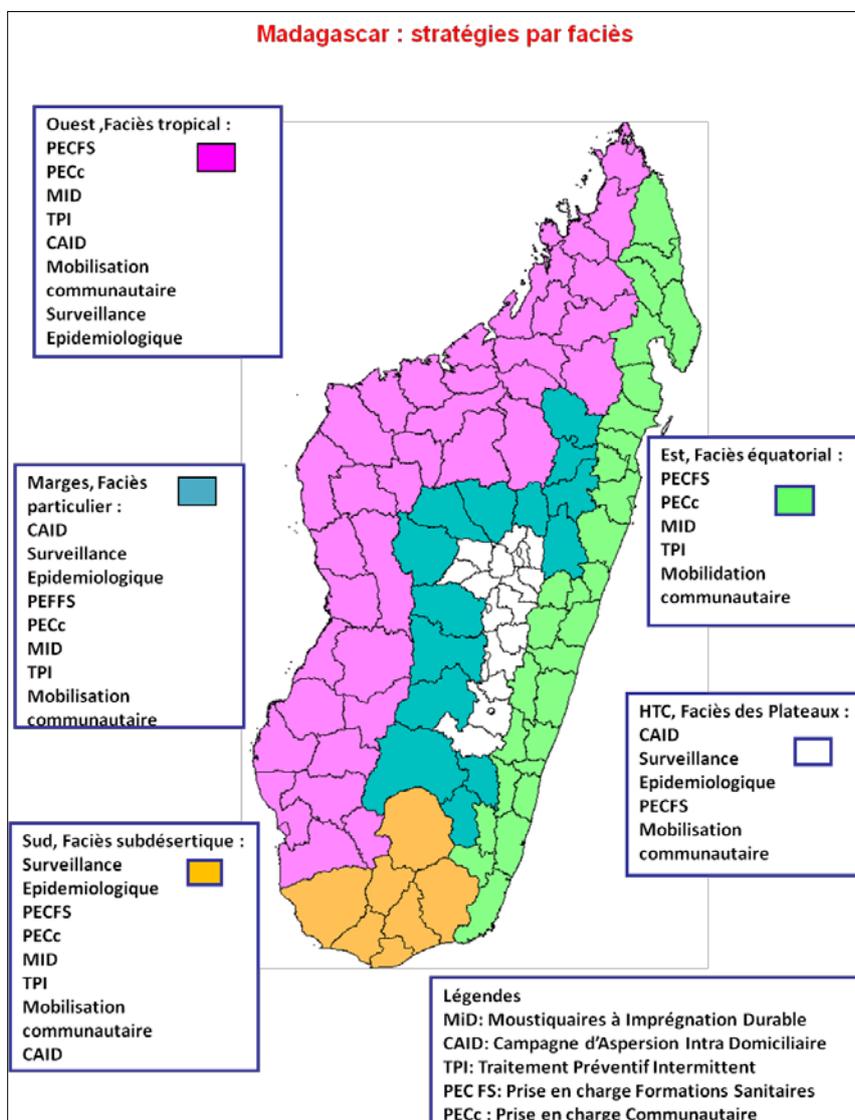


Figure 6: Stratégies par faciès (source Plan stratégique Nationale de lutte contre le paludisme : 2010-2015)

2.2.5. La prise en charge des cas de paludisme à Madagascar : Données de littérature

2.2.5.1. Traitements antipaludiques et résistance (36)

En 2006, le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) a recommandé le remplacement de la CQ par une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (ACT) : l'association artésunate-amodiaquine (ASAQ) pour traiter en première intention les cas de paludisme non compliqué. Dans les faits, la CQ a été remplacée dans les structures sanitaires mais elle reste encore utilisée au niveau communautaire, où son remplacement par l'ASAQ commence à se mettre en place. L'association artéméther-luméfántrine (AL) est recommandée en traitement de seconde intention. La quinine (QN) reste utilisée en cas de forme grave et l'association sulfadoxine-pyriméthamine (SP) est recommandée pour le traitement présomptif intermittent (TPI) chez les femmes enceintes.

Depuis 2007, Madagascar fait partie des 82 pays en phase de contrôle du paludisme. La mise en œuvre de ce programme (2007-2012) a pour objectif de réduire la mortalité et la morbidité liées au paludisme respectivement de 90% et de 75%, de prendre en charge correctement tous les patients vus en consultation dans les formations sanitaires ou au niveau communautaire. Selon les faciès épidémiologiques une diversification des méthodes de lutte a été mise en place reposant pour l'essentiel sur l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII), sur l'aspersion intra-domiciliaire (AID), et sur la prise en charge correcte et rapide de tous les cas de paludisme (diagnostic clinique – microscopie ou RDT et traitement - ASAQ).

La résistance de *P. falciparum* aux divers antipaludiques constitue une menace majeure pour le contrôle de cette maladie. Les premiers cas de chloroquino-résistance (CQR) ont été détectés en 1975 soit pratiquement au même moment, voire même un peu avant, que les premiers cas en Afrique de l'est. Depuis la confirmation des premiers cas en 1981, diverses études utilisant les méthodes d'évaluation de la résistance (efficacité thérapeutique, chimiosensibilité *in vitro* et marqueurs moléculaires), ont été menées dans plusieurs localités. Pendant longtemps, ces études ont rapporté une résistance de niveau modéré pour la CQ et faible pour les autres molécules.

Chloroquine (CQ)

La CQ est utilisée à Madagascar depuis 1945. Plusieurs études ont montré une stabilité de la CQR à un niveau relativement faible au cours des années 1981-2005, n'excédant que rarement le seuil de 25% de résistance clinique et ce malgré une utilisation massive et non contrôlée en automédication. Lors d'une étude multicentrique, le taux d'échec global à la CQ s'élevait à 44% (n=300) en moyenne, un taux comparable à ceux observés sur le continent Africain. Les échecs observés étaient majoritairement de type tardif. Cette situation a milité pour le remplacement de la CQ par l'ASAQ en traitement de première intention de l'accès palustre non compliqué. De manière surprenante, les tests de chimiosensibilité *in vitro* effectués à cette même période ne montraient que 3.2% d'isolats de phénotype résistant (n = 372, 7 sites sentinelles) avec une moyenne géométrique de CI₅₀ relativement basse (18.5 nM) confirmant les résultats des études antérieures. De plus, les parasites mutants sur le gène *pfcr*, principal responsable de la CQR, n'étaient présents que chez moins de 1% des isolats. Par contre, la mutation *pfmdr1* N86Y, associée à la résistance à la CQ a été trouvée en 2005 chez 67.5% des isolats collectés en 3 sites et lors d'une étude multicentrique dans 64.3% des isolats (n =174) en 2006 et dans 51.7% des isolats (n = 343) en 2007.

La résistance de *P. falciparum* à la CQ à Madagascar apparaît donc particulière. Au vu de ces faits, nous avons étudié spécifiquement l'association entre les échecs thérapeutiques à la CQ et le polymorphisme du gène *Pfmdr1*. Une sélection de la mutation N86Y entre J0 et le jour de l'échec a été observée. L'analyse multivariée a également montré que la présence de la mutation N86Y constituait un facteur de risque d'échec thérapeutique (OR = 4.6, 95%CI 2.3 to 8.9, P < 0.0001) et que la médiane de survie des patients porteurs de parasites mutants *Pfmdr-1* 86Y (n=163, médiane de survie estimée à 21 jours) était significativement plus courte que les patients porteurs de parasites sauvages (n=77, médiane de survie estimée à 28 jours). L'étude des marqueurs microsatellites flanquant les mutations impliquées dans la résistance aux antipaludiques a montré une diversité équivalente entre les souches sauvages et les souches mutées.

Amodiaquine (AQ)

L'AQ, une 4-aminoquinoléine utilisée sans interruption à Madagascar depuis les années 1950, a montré une meilleure activité que la CQ. En 2006, nous avons observé 1.7% (n=356) d'échecs thérapeutiques. L'évaluation *in vitro* de la sensibilité à la monodéséthylamodiaquine (MDA), le métabolite actif de l'AQ, n'a montré aucun cas de résistance. Ces données justifient pleinement son emploi en association avec l'artésunate en première intention dans le traitement de l'accès palustre non compliqué.

Méfloquine (MF)

La MF n'est pas couramment utilisée à Madagascar à cause de son coût élevé. Toutefois, les résultats des études *in vivo* et *in vitro* ont montré sa très bonne efficacité. L'augmentation du nombre de copies du gène *Pfmdr-1*, associé à la résistance *in vivo* et *in vitro* à la MF n'a pas été mise en évidence sur les isolats malgaches.

Quinine (QN)

Théoriquement réservée dans le traitement des formes graves ou lors d'un échec aux autres antipaludiques, la QN est en fait, d'après une enquête menée en 2006, le premier antipaludique prescrit par les praticiens. A notre connaissance, il n'existe pas d'étude récente de l'efficacité clinique de la QN à Madagascar ce qui constitue une limite à la connaissance de la résistance de *P. falciparum*. Cependant, la chimiosensibilité *in vitro* à la QN apparaît excellente dans toutes les études. Nous avons étudié sur nos isolats malgaches les polymorphismes du gène *Pfnhe-1*, rapporté récemment comme associé à la diminution de sensibilité à la QN. L'étude des microsatellites a montré que ce gène était très polymorphe. Nous n'avons pas mis en évidence l'association entre ces polymorphismes et la sensibilité *in vitro* de nos isolats.

Sulfadoxine-pyriméthamine (SP)

Recommandée en traitement de seconde intention pour les cas simples de 1997 à 2006, la SP était déjà utilisée bien avant cette période à Madagascar. Elle est actuellement recommandée pour le TPI chez les femmes enceintes. L'échec thérapeutique à la SP et la résistance *in vitro* à la pyriméthamine sont rares. Nous avons confirmé l'efficacité de la SP par une étude multicentrique effectuée en 2006. La proportion d'échec thérapeutique à la SP était faible (<5%), justifiant pleinement son emploi dans le TPI chez les femmes enceintes.

Antérieurement à nos travaux, la prévalence d'isolats présentant des mutations dans les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhp*, respectivement associés à la résistance à la pyriméthamine et à la sulfadoxine, était rapportée comme nulle. Nous rapportons aujourd'hui une fréquence importante de mutants *Pfdhfr* en particulier celle du triple mutants *Pfdhfr* 51I/59R/108N (jusqu'à 33.3% en 2008). Nous avons montré que la prévalence et la répartition de l'allèle triple mutant *Pfdhfr* 51I/59R/108N étaient très hétérogènes : élevée dans l'ouest du pays (>85% à Tsiroanomandidy) à faible voire absente dans le nord-est (0% à Andapa). Ces parasites *Pfdhfr* 51I/59R/108N ont été trouvés majoritairement dans le nord-ouest

(Maevatanana, Mahajanga, Antsohihy et Analalava) atteignant 67.7% en 2008 et diffusant vers le sud. L'étude de marqueurs microsatellites associés à ce gène, nous a permis de montrer que la majorité des parasites avait pour origine l'Asie du sud-est et qu'une moindre proportion présentait un profil d'émergence locale. Nous avons également mis en évidence une fréquence importante de la mutation *Pfdhps* 437G (environ 30%). De plus, un haplotype unique à Madagascar, l'allèle simple mutant *Pfdhfr* 164L, a été trouvé dans le sud du pays en 2006. Nous avons rapporté une fréquence croissante et élevée de cet allèle allant jusqu'à 30% en certains sites en 2008. L'analyse des marqueurs microsatellites a de plus montré que les isolats portant cette mutation étaient répartis en 14 haplotypes différents, confirmant un phénomène d'émergences locales. Lozovsky *et al.* ont récemment étudié le niveau de sensibilité de différents haplotypes mutants de la DHFR plasmodiale dans un système de complémentation bactérienne. Dans ce système, les bactéries contenant l'allèle simple mutant 164L, ont montré un niveau de sensibilité *in vitro* à la pyriméthamine équivalent aux bactéries contenant l'allèle sauvage. Les premiers résultats de la détermination du phénotype de ces isolats semblent confirmer ces données.

Dérivés de l'artémisinine

L'artésunate, associé à l'AQ (ASAQ), récemment utilisés à Madagascar, a montré une efficacité clinique excellente. Le suivi de la chimiosensibilité *in vitro* à la dihydroartémisinine des isolats de 2006 à 2008 ne montre pas d'isolats de sensibilité diminuée mais seulement une légère augmentation de la moyenne géométrique de la CI_{50} liée à la disparition des parasites les plus sensibles.

La résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques à Madagascar apparaît unique et particulière à plusieurs titres. En premier lieu, la résistance à la CQ semble différer de celle observée en Afrique sub-saharienne, en Asie ou en Amérique du Sud. Différents phénotypes de résistance de *P. falciparum* à la CQ sont prévalents dans ces continents. Des études récentes ont montré que les phénotypes de résistance à la CQ sont régis par différentes combinaisons d'haplotypes *Pfcr*t et *Pfmdr*1 qui interagissent entre elles selon des modalités qui restent à préciser. En particulier le niveau de réponse à la CQ est affecté par différentes mutations de *Pfmdr*1 dont l'effet dépend de l'haplotype particulier de *Pfcr*t avec lequel elles sont associées. On sait également qu'un haplotype mutant de *Pfcr*t, CVIET, originaire d'Asie a envahi l'Afrique d'Est en Ouest au cours des années 1970-1980. Madagascar a été relativement épargnée par la CQR pendant de nombreuses années, comparativement à ce qui était observé en Asie ou en Afrique. L'allèle CVIET, quoique présent en forte proportion

dans l'archipel des Comores, n'a pas diffusé sur la Grande Île. Ceci a permis d'objectiver l'effet de différents haplotypes mutants de *Pfmdr1*, associés à l'allèle sauvage de *Pfcr1*, dans la résistance à la CQ, alors que cet effet a pu être masqué ailleurs dans le monde par la forte prévalence de mutants *Pfcr1*. Ces combinaisons d'allèles *Pfcr1* CVMNK (sensibles à la CQ) avec des haplotypes *Pfmdr1* mutants en 1 ou plusieurs positions (86, 184 et 1246) ont généré des échecs thérapeutiques en proportion élevée (44%) chez une population souvent moins immune qu'en Afrique sub-saharienne. De manière intéressante, ces échecs apparaissaient généralement sous forme d'échecs tardifs. De plus, cette CQR ne se traduisait pas *in vitro* par des CI_{50} notablement plus élevées, le test de chimiosensibilité *in vitro* n'étant peut-être pas adapté pour mettre en évidence ce type de CQR. Les parasites mutants responsables de la résistance aux antipaludiques semblent avoir été introduits à Madagascar par les Comores. Cependant, la très faible diffusion de parasites mutants *Pfcr1* contraste avec celle des parasites mutants *Pfmdr1* où la même prévalence a été retrouvée à Madagascar et aux Comores. Seules les 3 mutations ponctuelles, N86Y, Y184F et D1246Y ont été trouvées à Madagascar. Considérant les polymorphismes du gène *Pfmdr1*, nous avons observé qu'il n'y avait pas d'haplotype majoritaire, mais une hétérogénéité de distribution de 4 haplotypes, contrairement aux Comores où 66% des parasites portaient l'haplotype mutant 86Y-184F-1246Y. Les modifications alléliques de *Pfmdr1* ont été associées à des effets sur la réponse à la CQ et à l'AQ mais aussi à d'autres molécules antipaludiques telles que la QN, la MF, l'halofantrine et l'artémisinine. Il faudra voir à l'avenir dans quelle mesure la proportion élevée de mutants *Pfmdr1* observée à Madagascar peut avoir un impact sur la résistance à ces autres antipaludiques, même si pour l'instant cet impact semble modeste.

La seconde particularité de la résistance de *P. falciparum* à Madagascar concerne le gène *Pfdhfr*, contrôlant la résistance aux antifoliniques. La mutation I164L associée à d'autres mutations sur DHFR est fréquemment trouvée en Asie du Sud-Est, en Amérique latine et, pour l'instant, beaucoup plus rarement en Afrique. Cette mutation *Pfdhfr* 164L a été trouvée pour la première fois à Madagascar en 2006 sous forme de simple mutant et elle n'a depuis jamais été rapportée ailleurs sous cette forme. Jusqu'ici, seuls 4 haplotypes contenant la mutation 164L ont été décrits : le quadruple mutant *Pfdhfr* 51I/59R/108N/164L (identique à celui trouvé aux Comores, rapporté par Maïga *et al* et Andriantsoanirina *et al*), les triple mutants 51I/108N/164L et 59R/108N/164L et donc le simple mutant 164L. La prévalence et la répartition de l'allèle 51I/59R/108N sont très hétérogènes, étonnamment élevée dans l'ouest du pays. La prévalence du triple-mutant reste élevée aux Comores (>45%), d'où un risque non négligeable d'importation de ces souches mutées à Madagascar comme nous

l'avons récemment démontré. L'importation du quadruple mutant 108N/51I/59R/164L, présent aux Comores en très faible proportion, ne peut également être exclue. Par ailleurs, la génération de ce quadruple mutant 51I/59R/108N/164L sur un fond triple mutant 51I/59R/108N, ayant les mêmes capacités de résistance vis-à-vis de la SP que les parasites analogues du Sud-Est asiatique ou d'Amérique latine, pourrait également survenir. Lozovsky *et al.* soulignent que les quadruples mutants DHFR sont apparus et ont pu se maintenir en zone de faible transmission palustre telle l'Asie. L'explication serait qu'en zone de faible transmission les infections sont plus souvent dues à un seul génotype plasmodial ce qui minimise la probabilité de recombinaison génétique chez le moustique et permet le maintien des haplotypes DHFR résistants avec leurs mutations compensatoires dans les autres gènes. En zone de forte transmission, telle l'Afrique sub-saharienne, les recombinaisons sont plus fréquentes et dissocient les gènes mutants de résistance d'avec leurs mutations compensatoires. Il s'en suit des parasites de moindre « fitness » qui ne peuvent se maintenir et diffuser en situation naturelle. Si tel est le cas, ces mutants pourraient apparaître et diffuser à Madagascar, préférentiellement au Sud de la Grande Île, là où la transmission est moindre et où les proportions de simple mutant 164L sont déjà parmi les plus importantes. L'émergence et la diffusion d'un tel quadruple mutant DHFR auraient des conséquences épidémiologiques importantes. En effet, le TPI, reposant sur l'administration de 2 doses supervisées de SP au cours de la grossesse, constitue un des éléments de la politique nationale de lutte contre le paludisme. Il y aurait également un risque de diffusion de ces parasites aux îles proches de l'Océan Indien voire même au continent Africain. Les dérivés de l'artémisinine apportent une contribution importante dans le contrôle du paludisme. En Afrique, l'efficacité des antipaludiques à base d'artémisinine, ASAQ et artéméthéruméfantrine, est très élevée. Les études cliniques récentes montrent une excellente activité de l'ASAQ à Madagascar. La perte des isolats les plus sensibles observée *in vitro* peut néanmoins annoncer le début d'une moindre efficacité de ces molécules. Pour l'instant la résistance à ces composés récemment décrite en Asie se traduit par une augmentation du temps de clairance parasitaire et non par une augmentation franche des CI_{50} ni par une augmentation du temps de clairance de la fièvre. Il faudrait vraisemblablement mettre en place à l'avenir une surveillance tenant compte de ce paramètre et non pas se limiter à des enquêtes cliniques classiques ou à la détermination de phénotypes. Si les souches résistantes originaires du Cambodge venaient à diffuser à Madagascar, directement en provenance d'Asie ou après une étape en Afrique ou aux Comores, il est clair que le programme visant à contrôler, et à fortiori éliminer, le paludisme connaîtrait de graves difficultés.

Le contrôle du paludisme à Madagascar est complexe du fait de la présence de divers faciès épidémiologiques. Tout relâchement des programmes de contrôle pourrait être à l'origine d'une recrudescence de la maladie comme les échecs passés nous l'ont appris. Afin d'optimiser ce contrôle, il nous apparaît nécessaire de renforcer la surveillance déjà mise en place par le RER (Réseau d'Etudes de la Résistance) et de créer un réseau de surveillance au niveau de l'Océan Indien. En particulier, la côte Ouest, constituant une porte d'entrée pour les parasites résistants venant des Comores, nécessite une surveillance attentive.

2.2.5.2. Le diagnostic du paludisme

Recommandations

Devant tout cas de fièvre, ou des signes évocateurs du paludisme, la pratique d'un examen parasitologique (TDR/Goutte épaisse) est à présent obligatoire au niveau des Centres de Santé à Madagascar :

- ***Goutte épaisse***

Si le laboratoire est équipé, il est recommandé de faire une goutte épaisse et un frottis mince pour rechercher les parasites du paludisme, de vérifier le taux d'hémoglobine (Hb) ou le taux d'hématocrite (Hte).

- ***Test de Diagnostic Rapide (TDR)***

Ces tests permettent de poser très rapidement le diagnostic de paludisme. Les critères de choix des tests se basent sur leurs performances (la sensibilité avec un seuil de détection < 100 parasites / μ l de sang) et la spécificité), leur stabilité à 35°C et leur facilité d'utilisation.

On distingue plusieurs types de tests immuno-chromatographiques. Les tests qui détectent uniquement une espèce plasmodiale, en général la protéine HRP-II spécifique du *P. falciparum* et les tests détectant les 4 espèces (détection de la protéine HRP-II spécifique du *P. falciparum* et de la pLDH spécifique des 4 espèces de *Plasmodium*).

A partir de l'année 2007, l'utilisation du TDR a été généralisée dans les Centres de Santé de Base à Madagascar. Plus récemment, l'utilisation du TDR a été étendue au niveau communautaire et leur utilisation par les Agents Communautaires est recommandée.

Résultats d'études publiées

Au cours des dernières années, nous avons mené plusieurs études pour évaluer les performances des TDR commercialisés afin de conseiller le PNLN sur les stratégies diagnostiques les plus appropriées. Le résumé de 3 études publiées dans des revues internationales est détaillé ci dessous :

Ratsimbaoa A, Randriamanantena A, Raherinjafy R, Rasoarilalao N, Ménard D. Which malaria rapid test for Madagascar? Field and laboratory evaluation of three tests and expert microscopy of samples from suspected malaria patients in Madagascar. Am J Trop Med Hyg. 2007 Mar;76(3):481-5.

Field and laboratory studies were carried out in October and November 2005 to provide a comparative evaluation of the performance of three rapid malaria detection tests, two of which were recently introduced (the CareStart™ Malaria test and the SD Malaria Antigen Bioline™ test) and the well-known OptiMAL-IT™ test. Compared with microscopy, the sensitivity of the three tests to detect *Plasmodium falciparum* malaria was 97% for the CareStart™ Malaria test, 89.4% for the SD Malaria Antigen Bioline™ test, and 92.6% for the OptiMAL-IT™ test. The three tests were less sensitive in detecting *non-P.falciparum* infections, and the sensitivity decreased at levels of parasitemia 500 parasites/μL for *P. falciparum* and 5,000 parasites/μL for other *Plasmodium spp.* On the basis of World Health Organization recommendations, only the CareStart™ Malaria test and the OptiMAL-IT™ test had sensitivities greater than 95% for samples with parasitemia 100 parasites/μL.

Rakotonirina H, Barnadas C, Raherijafy R, Andrianantenaina H, Ratsimbaoa A, Randrianasolo L, Jahevitra M, Andriantsoanirina V, Ménard D. Accuracy and reliability of malaria diagnostic techniques for guiding febrile outpatient treatment in malaria-endemic countries. Am J Trop Med Hyg. 2008 Feb;78(2):217-21.

The main purpose of this study was to assess the accuracy of various techniques available for diagnosis of malaria. Blood samples were collected from 313 patients with clinical suspicion of uncomplicated malaria in 2 primary health centers in Madagascar. The presence of *Plasmodium* parasites was assessed by conventional microscopy, 2 rapid diagnostic tests (one HRP2-based test, PALUTOP+4, and one pLDH-based test, OptiMAL-IT), and real-time polymerase chain reaction (PCR), which is used as the “gold standard” method. The degree of agreement observed was very high for microscopy (0.99) and the HRP2-based test (0.93) and high for the pLDH-based test (0.82).

Ratsimbaoa A, Fanazava L, Radrianjafy R, Ramilijaona J, Rafanomezantsoa H, Ménard D. Evaluation of two new immunochromatographic assays for diagnosis of malaria. Am J Trop Med Hyg. 2008 Nov;79(5):670-2.

We assessed the performance of two new commercially available rapid diagnostic tests (RDTs) for malaria (SD Bioline Malaria Ag Pf test and Ag Pf/Pan test) in 200 patients with uncomplicated malaria between August and October 2007 in Madagascar. Results of the two RDTs were compared with those obtained by microscopy and real-time polymerase chain reaction. The sensitivity and specificity for detection of *Plasmodium falciparum* were 93% and 98.9%, respectively, for the SD Bioline Malaria Ag Pf test and 92.9% and 98.9% for the SD Bioline Malaria Ag Pf/Pan test. The sensitivity of the SD Bioline Malaria Ag Pf/Pan test was much lower for detection of other species (63.6%). The sensitivity of the two new assays decreased to 77.3% at parasitemia levels < 100 parasites/μL for detection of *P. falciparum*.

3. OBJECTIFS ET RÉSULTATS DE L'ÉTUDE

Le principal objectif de notre travail a été d'évaluer la stratégie de prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans au niveau communautaire.

Pour évaluer la stratégie de prise en charge, trois objectifs spécifiques ont été abordés, à savoir,

Objectif 1

Étudier l'efficacité thérapeutique de la combinaison fixe « artesunate-amodiaquine » dans la prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans au niveau communautaire.

Objectif 2

Évaluer les performances des tests de diagnostic rapide utilisés au niveau communautaire,

Objectif 3

Décrire la situation épidémiologie du paludisme au niveau communautaire et évaluer l'impact des stratégies de lutte actuellement mises en œuvre.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons conduit deux études longitudinales. La première étude conduite de février 2008 à février 2010 (24 mois) visait à évaluer les recommandations du PNLN concernant la prise en charge des fièvres au niveau communautaire par l'utilisation de la combinaison fixe « artesunate amodiaquine » chez les enfants de moins de 5 ans en zone de transmission stable (district de Manakara) et en zone de transmission instable (district de Moramanga). En parallèle, nous avons introduit les TDR de façon à évaluer leur intérêt dans les mains des Agents Communautaires. Pour cela, un diagnostic systématique des fièvres par microscopie, TDR, et biologie moléculaire a été effectué. La deuxième étude réalisée entre février 2009 et mars 2011 portait sur une analyse approfondie de l'épidémiologie du paludisme en zone de transmission stable (district de Manakara). Pour cela cinq dépistages actifs en complément d'un suivi passif des sujets inclus ont été conduits.

3.1. Objectif 1. Etude de l'efficacité thérapeutique de la combinaison fixe « artesunate-amodiaquine » dans la prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans au niveau communautaire.

Malgré l'augmentation des ressources affectées à la lutte contre le paludisme par la communauté nationale et internationale (6 milliards US\$ en 2000 et 16 milliards US\$ en 2006), la prise en charge des cas de paludisme par l'administration rapide d'antipaludiques efficaces demeure un problème de santé publique majeur. Globalement, cette situation est principalement due à l'incapacité pour de nombreux pays endémiques à fournir des services de santé fiables. Les principales raisons sont le manque d'accès aux établissements de soins, l'insuffisance des infrastructures de santé et la mauvaise gestion du personnel de santé. Ce problème est particulièrement marqué dans les zones rurales reculées de l'Afrique subsaharienne, comme Madagascar. Depuis plusieurs années, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) préconise, pour améliorer cette situation, une stratégie basée sur la prise en charge des cas de fièvre au niveau communautaire (home management of fever - HMM). Cette stratégie, basée sur le constat que la plupart des cas de fièvre sont dus au paludisme dans les régions d'endémie, favorise l'administration à domicile d'un traitement approprié (après confirmation parasitologique si celle-ci est disponible) dès que possible après l'apparition des symptômes. Cependant, jusqu'ici peu d'études ont démontrés l'efficacité de cette stratégie pour permettre aux programmes nationaux de lutte de décider de l'introduction des nouvelles combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine (ACT) en milieu communautaire. Jusqu'à présent, seules quelques études ont évalué l'impact de cette stratégie le plus souvent basée sur l'administration de la chloroquine, qui est depuis devenue obsolète en raison de l'émergence de parasites résistants.

A Madagascar, la politique de HMM a été introduite dans le programme national de lutte contre le paludisme et mise en place depuis 1998. Cette stratégie a impliqué la distribution de chloroquine dans la communauté par les prestataires de santé et les écoles communautaires. C'est en 2004 que la chloroquine préemballée a été introduite et distribuée par des canaux de marketing social ou établissements de santé. Cependant, depuis 2005, l'émergence et la propagation des parasites chloroquino-résistants a conduit au changement de politique en matière de traitement par le remplacement de la chloroquine par la combinaison l'artesunate-amodiaquine (ASAQ). Depuis, aucune étude n'a été conduite pour évaluer la faisabilité et l'efficacité de cette stratégie.

C'est donc dans ce contexte que nous avons mené une étude longitudinale de 24 mois chez les enfants de moins de cinq ans dans deux zones de transmission différentes (zone à paludisme stable et zone à paludisme instable) pour évaluer l'impact de la nouvelle combinaison fixe d'ASAQ afin d'obtenir des données permettant l'introduction de ce nouveau traitement au niveau communautaire. Nous avons en particulier observé que le taux de guérison clinique global était de 98,4% au bout de 28 jours et 97,9% au bout de 42 jours. La compliance au traitement a été estimée à 83,4%. Aucun effet indésirable grave n'a été observé.

Ce travail est détaillé dans l'article présenté ci-dessous (« ***Compliance, Safety, and Effectiveness of Fixed-Dose Artesunate-Amodiaquine for Presumptive Treatment of Non-Severe Malaria in the Context of Home Management of Malaria in Madagascar*** »), paru en 2011 dans la revue « American Journal of Tropical Medicine and Hygiene ».

Compliance, Safety, and Effectiveness of Fixed-Dose Artesunate-Amodiaquine for Presumptive Treatment of Non-Severe Malaria in the Context of Home Management of Malaria in Madagascar

Arsène Ratsimbaoa,* Harintsoa Ravony, Jeanne-Aimée Vonimpaisomihanta, Rogelin Raheerinjafy, Martial Jahevitra, Rabenja Rapelanoro, Jean De Dieu Marie Rakotomanga, Denis Malvy, Pascal Millet, and Didier Ménard*

Ministère de la Santé, du Planning Familial et de la Protection Sociale, Antananarivo, Madagascar; Malaria Unit Research, Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar; Université d'Antananarivo, Antananarivo, Madagascar; Centre René Labusquière, Université Victor Segalen, Bordeaux 2, Bordeaux, France; EA Pharmaceuticals and Analytical Methods for Neglected Diseases and Counterfeit Drugs, Bordeaux 2 University, Bordeaux, France; Malaria Molecular Epidemiology Unit, Institut Pasteur du Cambodge, Phnom Penh, Cambodia

Abstract. Home management of malaria is recommended for prompt, effective antimalarial treatment in children less than five years of age. Compliance, safety, and effectiveness of the new fixed-dose artesunate-amodiaquine regimen used to treat suspected malaria were assessed in febrile children enrolled in a 24-month cohort study in two settings in Madagascar. Children with fever were asked to visit community health workers. Presumptive antimalarial treatment was given and further visits were scheduled for follow-up. The primary endpoint was the risk of clinical/parasitologic treatment failure. Secondary outcomes included fever/parasite clearance, change in hemoglobin levels, and frequency of adverse events. The global clinical cure rate was 98.4% by day 28 and 97.9% by day 42. Reported compliance was 83.4%. No severe adverse effects were observed. This study provides comprehensive data concerning the clinical cure rate obtained with artesunate-amodiaquine and evidence supporting the scaling up of home management of malaria.

INTRODUCTION

Despite the large increase in the resources assigned to malaria by the national and international community (from US \$6 billion in 2000 to US \$16 billion in 2006), and the possibility of cure by the prompt administration of effective antimalarial treatment, malaria remains a major public health problem.¹ Globally, this situation results mostly from an inability of many countries to provide reliable health services. There are several reasons for this, including a lack of access to health facilities, inadequacy of the health-care infrastructure and the poor performance of health staff.²⁻⁵ This problem is particularly marked in remote, rural areas of sub-Saharan Africa, such as Madagascar.

For several years, the World Health Organization (WHO) has advocated a strategy based on the home management of fever (HMM) to improve the situation.⁶ This strategy, based on the assumption that most cases of fever are caused by malaria in areas in which the disease is endemic, promotes the administration of appropriate treatment (after parasitologic confirmation if available) at home by care providers as soon as possible after the onset of symptoms.^{7,8} However, there is only limited evidence to demonstrate the effectiveness of this strategy, and policy decisions to introduce artemisinin combination therapies (ACTs) in community settings have been based on several untested assumptions.⁹ Only a few studies have assessed the impact of this strategy on health outcomes in Madagascar, and the only treatment administered in these studies was chloroquine, which has since become obsolete because of drug resistance.¹⁰

Madagascar has implemented a policy of HMM as part of its National Malaria Control Program since 1998. This strategy has involved the distribution of chloroquine within the community by health providers and community schools. This strat-

egy successfully contained the deadly epidemic of malaria that spread through the central highlands of Madagascar during the 1980s.¹¹ In 2004, prepackaged chloroquine was introduced and distributed through social marketing channels or health facilities.¹⁰ However, since 2005, the emergence and spread of chloroquine-resistant parasites¹² has led to a change in the national policy, which now advocates the replacement of chloroquine with artesunate-amodiaquine (ASAO) as the first-line treatment for uncomplicated malaria. However, the feasibility and impact of HMM with ACT in terms of compliance with treatment and the safety and effectiveness of the HMM strategy must be confirmed, in areas with different epidemiological characteristics.¹³

In this context and during a 24-month cohort study conducted in children less than five years of age in two settings (high and low levels of transmission), we have assessed the impact of the new fixed-dose ASAO regimen on clinical outcomes to obtain evidence supporting (or ruling out) the use of ACT in the HMM strategy in Madagascar.

METHODS

Sites and participants. The study was conducted in two settings in Madagascar: two rural communities (Ampasimpotsy and Andasibe) in Moramanga District and two rural communities (Ampasimanjeva and Vohimasy) in Manakara District (Figure 1).

Moramanga District is located in the eastern foothills of the central highlands of Madagascar, 110 km east of Antananarivo (8°56' S, 48°12' E, elevation = 900 meters). At this site, malaria transmission levels are low and unstable. Moramanga District is characterized by an austral climate (mean temperature = 19.4°C, annual rainfall = 1,500 mm) and rainfall patterns extracted from data obtained over the past 30 years show that there is a five-month rainy season, extending from November through March. The annual entomologic inoculation rate in this area has been estimated to be 2-3 infectious bites per person per year, mostly from *Anopheles funestus*. The Bezanozano and Merina are the main ethnic groups in this area.

*Address correspondence to Arsène Ratsimbaoa, Programme National de Lutte Contre le Paludisme, Ministry of Public Health, BP 1869, Antananarivo, Madagascar, E-mail: arsene.ratsimbaoa@laposte.net or Didier Ménard, Molecular Epidemiology Unit, Pasteur Institute of Cambodia, 5 Boulevard Monivong, PO Box 983, Phnom Penh, Cambodia, E-mail: dmenard@pasteur-kh.org.

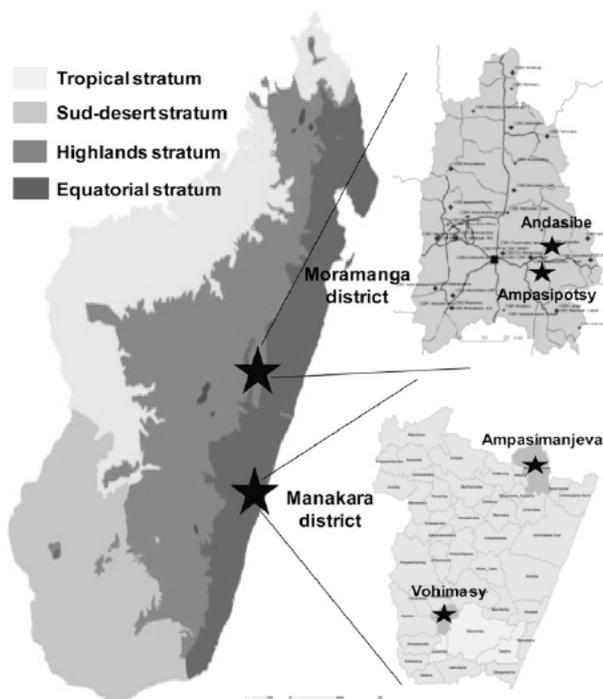


FIGURE 1. Map of Madagascar showing malarious epidemiologic strata and four selected study sites, 2008–2009.

Manakara District is located on the southeastern coast of Madagascar (22°09S, 48°E). Malaria transmission rates in this area are stable and high. Transmission occurs throughout the year and the entomologic inoculation rate has been estimated to be 35–50 infectious bites per person per year, mostly from *Anopheles gambiae*. This area has an equatorial climate (mean temperature = 26.8°C, annual rainfall = 2,000 mm and 175 days of rain per year). The population is composed of the Antaisaka, Antaifasy, and Zafisoro ethnic groups.¹⁴

We first carried out a census of children 2–59 months of age at the selected sites. Standard questionnaires reporting information about household socioeconomic and demographic features, malaria-related knowledge, attitudes and practices and the use of preventive measures, such as bed nets, were recorded. Each child included in the cohort was assigned a unique identification code once his or her parents or guardians had completed and signed an informed consent form.

The parents and guardians of the participants were asked to take their children to the community health worker (CHW) if the children had a fever. All CHWs (two at each site) involved in the study received training concerning the signs and symptoms of malaria, the information to be given to parents and guardians if no regression of clinical signs was observed or if adverse events occurred during treatment. They were also trained to record the temperature of the child, weigh the child, manage ACT treatment, complete the forms used to compile information and data, prepare and store blood films and blood spots collected on filter paper correctly, and use a hemoglobinometer to determine hemoglobin concentration.

Both medical officers (MOs; one per site) were trained to follow-up enrolled children during home visits on days 3, 28, and 42, complete information and data forms, record the

child's temperature, weigh the child, ask about compliance, prepare and store blood films and blood spots collected on filter paper, and report adverse events.

Study design. Children enrolled in the cohort who had a febrile episode were included in the study if they satisfied the following criteria: age \geq 2 months, axillary temperature \geq 37.5°C or had a fever within the past 24 hours, and capable of receiving oral treatment. Children with any clinical sign of severe malaria or serious concomitant disease were excluded from the study and immediately referred to the nearest health center. At each visit, CHWs prepared blood slides from the child for microscopy and collected blood on filter paper for polymerase chain reaction (PCR) analysis for further laboratory analysis. Parasitologic diagnosis was not used as a decision to treat, according to the Malagasy National Malaria Control Program guidelines. The first dose of the treatment (fixed dose of ASAQ) was administered to the child in the presence of the CHW. Subsequent doses were administered unsupervised at home, according to the instructions given by the CHW to parents and guardians. All parents and guardians were instructed to report to the CHW or the nearest health facility if the child had not improved after 48 hours or if the child show deterioration of his or her condition at any time. The CHWs were asked to complete forms regarding clinical (axillary temperature, weight) and biological (blood spot, slides, and hemoglobin concentration) information on day 0.

Children were followed-up by an MO through scheduled home visits on days 3, 28, and 42. The MO completed forms on days 3, 28, and 42 by recording clinical (axillary temperature, weight) and biological (blood spot, slides and hemoglobin concentration) data and information about compliance with treatment and adverse effects.

Treatment. According to the national malaria control policies in Madagascar, a fixed dose of ASAQ (CoarsucumTM; Sanofi-Aventis, Paris, France) was used. The recommended dose for children 2–11 months of age was one tablet containing 25 mg of artesunate and 67.5 mg of amodiaquine per day for three days. The recommended dose for children 1–5 years of age was one tablet containing 50 mg of artesunate and 135 mg of amodiaquine per day for three days. Tablets were administered orally by the CHW on day 0 with drinking water. Patients and guardians were advised that the child should resume a normal diet as soon as possible. They were also issued the drug and were responsible for subsequent administration. All patients were monitored for 30 minutes after drug administration to ensure that the drug was not lost through vomiting. If the child vomited during this observation period, the same dose of the drug was administered again. If vomiting recurred, the subject was referred to the nearest health center.

Compliance with treatment. Consistent with previous studies^{15–17} based on home visits at day 3 and questionnaires addressed to the parents, compliance with treatment was classified into four categories: 1) certain compliance for patients for whom complete treatment was reported, with the treatment protocol followed exactly, supported by the evidence of an empty blister pack for the drug; 2) probable compliance for patients for whom complete treatment was reported with the treatment protocol followed exactly but without the supporting evidence of the empty blister pack; 3) probable non-compliance in cases in which all tablets were reported to have been taken, but not consistent with the prescribed time/dosage schedule; and 4) certain non-compliance for patients

for whom tablets remained in the blister pack at the time of the home visit. Compliance was assessed by the MO on day 3.

Effectiveness and safety. A simplified WHO 2003 protocol,¹⁸ with scheduled home visits on days 3, 28, and 42 was used to assess the effectiveness and safety of the fixed dose of ASAQ. Treatment outcomes were assessed on days 28 and 42, as early treatment failure (ETF; danger signs, complicated malaria or inadequate response to treatment on days 0 to 3), late clinical failure (LCF; danger signs, complicated malaria or fever and parasitemia on days 4–28 or 4–42 in patients not previously meeting the criteria for ETF), late parasitologic failure (asymptomatic parasitemia on days 4–28 or 4–42 in patients not previously meeting the criteria for ETF or LCF), and adequate clinical and parasitologic response (absence of parasitemia on days 28 or 42 in patients not previously meeting the criteria for ETF, LCF, or late parasitologic failure).

Patients found to have had treatment failure were treated with quinine (10 mg/kg, three times a day for seven days) at the nearest health center. Their response to repeat therapy was not assessed. Patients were excluded after enrollment if any of the following occurred: 1) use of antimalarial drugs outside of the study protocol; 2) detection during follow-up of mixed malarial infections; 3) parasitemia in the presence of a concomitant febrile illness likely to interfere with the classification of treatment outcome; 4) withdrawal of consent; 5) loss to follow-up, 6) protocol violation, or 7) death caused by an illness other than malaria. Clinical safety was assessed by the MO through regular interviews with the patients and their families, at which the occurrence of adverse events since the previous visit was recorded.

Laboratory analyses. Finger prick blood samples were collected by CHWs and MOs at enrollment and at successive follow-up visits. Thick blood films and blood spots on Whatman (Maidstone, United Kingdom) filter paper were prepared for parasitologic examination.

Hemoglobin measurement. Hemoglobin was measured on day 0 by CHWs and on day 28 by MOs by using a HemoCue hemoglobinometer (HemoCue AB, Ängelholm, Sweden).

Microscopic examination. At the Malaria Research Unit of the Pasteur Institute of Madagascar, blood films were stained with 10% Giemsa for 10 minutes and screened by examination under a light microscope with a 100× oil immersion lens. Parasite densities were determined from thick blood smears by counting the number of asexual parasites per 200 leukocytes or per 500 leukocytes if there were less than 10 parasites/200 leukocytes, assuming a leukocyte count of 8,000 cells/ μ L. A blood smear was considered negative if no parasites were seen after the review of 100 fields. Thin blood smears were used to detect infections other than those with *Plasmodium falciparum*.¹⁹ All slides were read by two expert microscopists, and discrepancies were resolved by a third microscopist. For quality control purposes, a random sample of 10% of the slides analyzed at each site and of all slides classified as positive were re-evaluated blind to the original result and the source study center at the National Malaria Control Program Center.

DNA extraction and PCR analysis. Parasite DNA was extracted from blood spots collected on day 0 and on the day of recurrence by using the Instagene Matrix (Bio-Rad, Marnes la Coquette, France) according to the manufacturer's instructions. *Plasmodium* species were detected by real-time PCR²⁰ with a RotorGene 3000 thermocycler (Corbett Life Science, Sydney,

New South Wales, Australia), and technicians were blinded to the results of microscopy as described.²¹ Molecular genotyping techniques were used to distinguish recrudescence from new infection in all patients with treatment failure after day 7. Filter paper blood samples collected on the day of enrollment and on the day of treatment failure were analyzed for polymorphisms in the genes for merozoite surface protein-1 (*msp-1*) and *msp-2* by nested PCR, as described.²² We first compared *msp-2* genotyping patterns on the day of treatment failure with those at treatment initiation. If all of the *msp-2* alleles present on the day of treatment failure were present at the time of treatment initiation, genotyping was repeated with *msp-1*. An outcome was defined as recrudescence if all *msp-1* and *msp-2* alleles present at the time of treatment failure were present at the time of treatment initiation and as a new infection if this was not the case.

Statistical analysis. Data were input and verified with EpiInfo 6.04 software (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA), and analyzed with MedCalc software version 9.1.0.1 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

Effectiveness data were assessed with a per-protocol analysis that included all patients who completed the study. The study was designed such that the primary analysis was stratified by site, malaria status on the day of enrollment and compliance with treatment. Parasite densities were normalized by using logarithmic transformation. Categorical variables were compared by chi-square or Fisher's exact tests, and continuous variables were compared by using independent-sample *t*-tests.

The primary effectiveness outcomes were the likelihood of 28-day and 42-day clinical and parasitologic failure that was unadjusted and adjusted for genotype. Risks of clinical and parasitologic treatment failure after adjustment for genotype were estimated by Kaplan-Meier survival analysis, in accordance with the new WHO protocol.¹⁸ Data for new infections were censored in survival analysis. Secondary outcomes included fever clearance, parasite clearance, change in hemoglobin concentration between the measurements on days 0, 28 and 42, and the incidence of adverse events. Hypotheses were tested by calculating differences in risk, exact 95% confidence intervals, and *P* values. A *P* value (two-tailed) < 0.05 was considered statistically significant.

Ethical issues. This study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration and the national laws and regulations in force. The protocol was submitted to and approved by the Malagasy National Ethics Committee (No. 153/SANPF/2007). Written informed consent was obtained from each parent or guardian of the participants. If a parent or guardian was unable to sign, a fingerprint was made on the form to indicate consent. If parents or guardians were unable to read, the information was read and explained in the appropriate language. In such cases, the presence of a witness was required, and this witness signed the consent form to confirm that the patient's representatives had freely given consent. This protocol was also registered with the www.clinicaltrials.gov open clinical trials registry under identifier NCT00612547.

RESULTS

Population characteristics. A total of 1,073 children enrolled in the cohort were followed-up for 24 months. During this period, 543 febrile children were seen at the various study

sites and treated with fixed-dose ASAQ: 422 children had a one febrile episode, 99 had two febrile episodes, 19 had three febrile episodes, 2 had four febrile episodes, and 1 had five febrile episodes. No significant difference in the number of febrile episode was found between sites ($P = 0.8$).

The mean annual incidence of febrile episodes in children was estimated to be 0.55 for Ampasimanjeva (309 febrile episodes; 239 children with one febrile episode, 52 with two febrile episodes, 15 with three febrile episodes, 2 with four febrile episodes, and 1 with five febrile episodes), 0.23 for Vohimasy (118 febrile episodes; 92 children with one febrile episode, 24 with two febrile episodes, 2 with three febrile episodes), 0.11 for Ampasimpotsy (63 febrile episodes; 48 children with one febrile episode, 13 with two febrile episodes, 2 with three febrile episodes), and 0.11 for Andasibe (53 febrile episodes; 43 children with one febrile episode, 10 with two febrile episodes).

The characteristics of the cohort population are summarized in Table 1. Significant differences were found between sites. First, the mean age of the children was higher in areas of low-level malaria transmission. Second, the use of bed nets (including insecticide-treated bed nets) was much more frequent in areas with high levels of malaria transmission than in those with low levels of transmission. Third, the mean temperature of the child on day 0 was higher in areas of high-level malaria transmission than in areas with low levels of transmission. Fourth, the frequency of self-medication for malaria before consultation of the CHW ranged from 0% to 7.9%: chloroquine was more frequently used in areas of low-level malaria transmission, and cotrimoxazole was the first-line treatment used in areas with high levels of transmission.

Enrollment. For the 543 children treated with ASAQ on day 0, retrospective microscopy examination and parasite detection by PCR showed positive results in 198 children (M+/PCR+), 74 children were negative by microscopy and positive by PCR (M-/PCR+), and 271 were negative by both techniques (M-/PCR-).

A total of 375 (69.0%) of the 543 children completed treatment and follow-up to day 42. We identified 168 patients who were either lost to follow-up ($n = 137$; 48 on day 3, 59 on day

28, and 30 on day 42) or excluded/withdrawn from the trial ($n = 31$; 22 on day 3, 6 on day 28, and 3 on day 42). The flow of patients through the trial is shown in Figure 2.

Compliance. Compliance with the correct treatment protocol by parents and guardians was assessed for the 543 children at the four study sites. Overall, 90.0% (95% confidence interval [CI] = 87.2–92.5%) of the children were treated correctly in terms of drug dose and treatment duration (certain and probable compliance groups). The levels of compliance did not differ significantly between sites ($P = 0.5$) or diagnosis groups ($P = 0.8$). We identified 46 cases of non-compliance: 42 children who had not taken the correct dose (some tablets remained in the blister), and four who had taken the correct amount of the drug but not according to the prescribed time schedule.

Primary outcome: treatment effectiveness. Treatment effectiveness results are shown by day of follow-up and study site in Table 2. Among children with malarial infections, the overall treatment failure rate was 10 of 183 (5.5%; 95% CI = 2.6–10.1%) on day 28 and 20 of 172 (11.6%; 95% CI = 7.1–17.9%) on day 42. After PCR analysis, only 3 of 183 (1.6%; 95% CI = 0.3–4.8%) children on day 28 and 3 of 143 (2.1%; 95% CI = 0.4–6.1%) children on day 42 were classified as displaying recrudescence. Treatment outcomes (on days 28 and 42, adjusted or not adjusted for PCR results) did not differ significantly between sites ($P = 0.6$).

Secondary outcomes. Parasite clearance occurred rapidly in response to ASAQ treatment and was detected on day 3 in children with malaria. Only two children had parasitemia on microscopic examination on day 3 (690–3,600 parasites/ μ L in the first case and 150–2,750 parasites/ μ L in the second case). Fever clearance was more rapid in areas with low levels of malaria transmission (0% of children with a temperature $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ on day 3) than in areas with high transmission rates (8.6% in Ampasimanjeva and 4.2% in Vohimasy), but this difference was not significant. On day 42, the extent of hematologic recovery (median individual increase in hemoglobin levels) was 0.8 g/dL (95% CI = 0.5–1.0 g/dL). Significant differences were observed between sites

TABLE 1
Baseline characteristics of children involved in a 24-month cohort study of malaria, Madagascar, 2008–2009*

Characteristic	Study sites				P
	High transmission		Low transmission		
	Ampasimanjeva	Vohimasy	Ampasimpotsy	Andasibe	
Cohort population	281	258	299	235	
Mean age (months)	28.6	26.5	30.1	31.5	0.009
Sex ration (M:F)	1	0.87	0.86	0.94	NS
Bed nets availability (%)	81.1	99.2	0	7.7	< 0.0001
Insecticide-treated bed net use (%)	70.5	63.2	0	7.2	< 0.0001
No. febrile episode	309	118	63	53	
Mean temperature at day 0, $^{\circ}\text{C}$ (SD)	38.4 (0.87)	38.4 (0.86)	38.3 (0.83)	38.1 (0.57)	0.02
Previous antimalarial drug used (%)	4.5	5.1	7.9	0	< 0.0001
CQ (%)	47	43	71	33	
CTX (%)	53	57	29	67	
Mean delay between fever and treatment in day (SD)	1.3 (1.0)	1.2 (0.9)	1.5 (1.3)	1.1 (1.1)	NS
% Positive slides for malaria	36.9	43.2	31.7	24.5	NS
Trophozoite density, mean (range), parasite/ μ L	2,805 (48–76,760)	2,835 (64–82,000)	1,540 (64–37,250)	2,190 (880–12,750)	NS
Hemoglobin, median (IQR), g/dL	9.9	9.8	10.2	10.0	NS
Anemia† at enrollment (%)	51.1	50.9	44.6	53.8	NS

*NS = not significant; CQ = chloroquine; CTX = cotrimoxazole; IQR = interquartile range.

† Anemia was defined as a hemoglobin level < 10 g/dL.

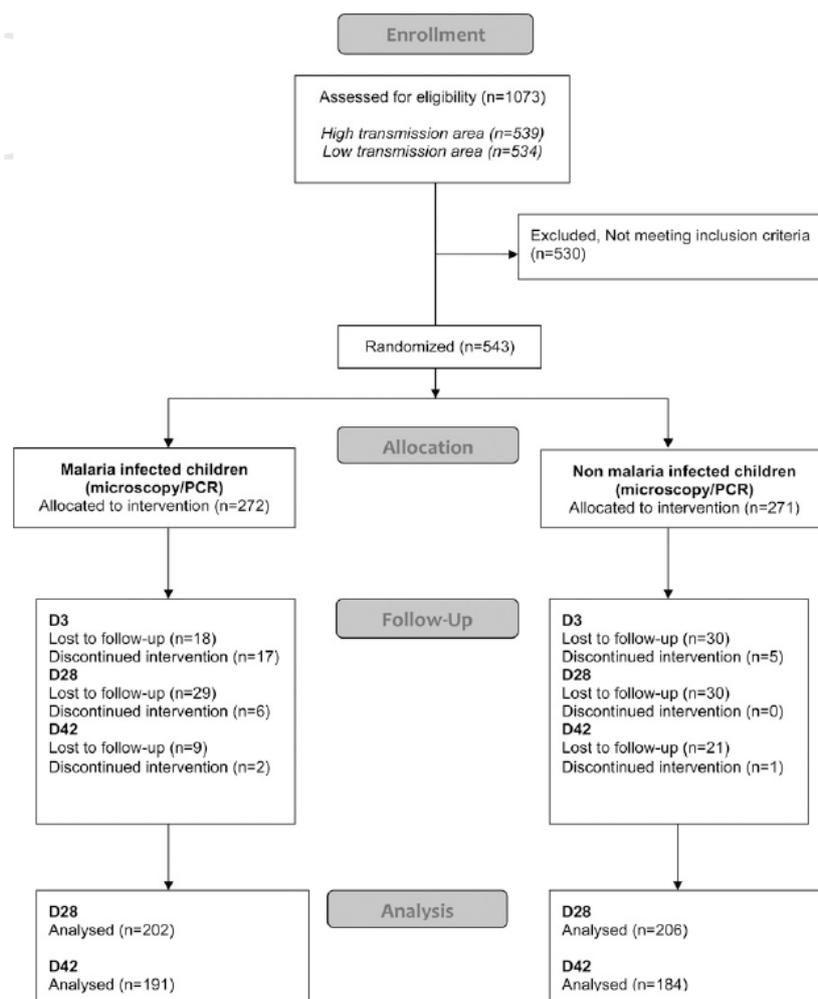


FIGURE 2. Flow of patients in the study in Madagascar, 2008–2009

(Ampasimanjeva = 0.7 g/dL, Vohimasy = 1.3 g/dL, Ampasimpotsy = 2.0 g/dL, and Andasibe = 4.3 g/dL; $P < 0.001$).

Adverse events. Adverse events were systematically reported throughout this study. The proportion of children for whom an adverse event was reported to the CHW was low in the M+/PCR+ group (3.5%; 95% CI = 1.5–7.2%). Diarrhea and sleepiness were the most frequently recorded adverse events. In the other groups, adverse events were more frequent: 5.3% (95% CI = 1.5–13.1%) in the M-/PCR+ group and 30.4% (95% CI = 21.8–41.2%) in the M-/PCR- group. Only two of these adverse events were considered serious (one child in the M+/PCR+ group and one child in M-/PCR- group). Both of these children subsequently died of presumed severe pneumonia after referral to the health center.

DISCUSSION

Home management of malaria, as advocated by the National Malaria Control Program in Madagascar, remains an essential strategy for malaria control. In this strategy, the aim is to administer effective antimalarial treatment (after parasitologic confirmation if available), promptly in all children five

years of age with fever lasting 24 hour. Home management of malaria has been used for several decades, but its impact on malaria mortality or morbidity has never been assessed in Madagascar. All available data for Madagascar concerning the feasibility of this strategy were obtained in studies in which chloroquine was used as the antimalarial drug.¹⁰ According to previous publications studies by Hopkins and others²³ and Pagnoni,¹³ the safety and effectiveness of HMM with ACT must be confirmed in various epidemiologic settings to provide policy makers with better information about opportunities for adopting and extending this strategy for malaria control. The objective of this study was to provide detailed data concerning the annual incidence of malaria infections in febrile children less than five years of age in various rural settings in Madagascar, and data on the safety and effectiveness of fixed-dose ASAQ recommended for the presumptive antimalarial treatment of febrile children and the degree of compliance with treatment.

The overall mean annual incidence of febrile episodes in children less than five years of age has been estimated to be 0.25, ranging from 0.11 in areas with low rates of transmission to 0.23–0.55 in areas with high transmission rates. No significant

TABLE 2

Malaria treatment outcomes and day of follow-up (day 28 and day 42, unadjusted and adjusted by genotyping) according to the epidemiologic settings, Madagascar, 2008–2009*

Characteristic	Outcome	High transmission		Low transmission	
		Ampasimanjeva	Vohimasy	Ampasimpotsy	Andasibe
Day 3 positive slide (%)		1.0	2.3	0	0
Outcome measure by day					
Day 28 unadjusted by PCR		n = 113	n = 50	n = 12	n = 8
Clinical failure	ETF	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	LCF	4 (3.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Parasitologic failure	LPF	4 (3.5)	2 (4.0)	0 (0)	0 (0)
Overall treatment failure		8 (7.0)	2 (4.0)	0 (0)	0 (0)
Day 28 adjusted by PCR		n = 113	n = 50	n = 12	n = 8
Clinical failure	ETF	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	LCF	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Parasitologic failure	LPF	1 (0.9)	1 (2.0)	0 (0)	0 (0)
Overall treatment failure		2 (1.8)	1 (2.0)	0 (0)	0 (0)
Day 42 unadjusted by PCR		n = 104	n = 48	n = 12	n = 8
Clinical failure	ETF	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	LCF	7 (6.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Parasitologic failure	LPF	7 (6.7)	4 (8.3)	0 (0)	0 (0)
Overall treatment failure		14 (13.4)	4 (8.3)	1 (8.3)	1 (12.5)
Day 42 adjusted by PCR		n = 75	n = 48	n = 12	n = 8
Clinical failure	ETF	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	LCF	1 (1.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Parasitologic failure	LPF	1 (1.3)	1 (2.1)	0 (0)	0 (0)
Overall treatment failure		2 (2.6)	1 (2.1)	0 (0)	0 (0)

* PCR = polymerase chain reaction; ETF = early treatment failure; LCF = late clinical failure; LPF = late parasitologic failure.

differences were found between the two settings, which was likely caused by greater use of insecticide-treated bed nets (approximately 67%) in areas of high transmission rates than in areas with low transmission rates (approximately 3.1%). This finding is of fundamental importance for the National Malaria Control Program in Madagascar because it can improve planning for the number of treatments annually purchased for HMM, in particular with support from the Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria.

This study also made it possible to quantify the frequency of malaria infection (by using microscopy and PCR for parasite detection) among febrile children. Malaria prevalence among febrile children ranged from 38.6% in areas with high levels of transmission to 28.4% in areas of low transmission and was considerably lower than that reported in studies in Tanzania (42%), Uganda (61%), Nigeria (71%), and Ghana (71%).²⁴ Malaria prevalence estimates among febrile children obtained by PCR were significantly higher than those obtained by microscopy in areas with high transmission rates (difference between positive microscopy results and positive PCR results was 17.1% in high transmission areas versus 3.6% in low transmission areas; $P < 0.0001$). Moreover, the pyrogenic threshold was approximately two-fold higher in high transmission areas than in low transmission areas (mean parasitemia in symptomatic children = 3,064 parasites/ μ L in areas with high transmission rates versus 1,302 parasites/ μ L in areas with low transmission rates), which indicates that anti-disease immunity to malaria may have occurred earlier among children living in areas of highest transmission of malaria in Madagascar.

In this study, we provide the first reliable data concerning the effectiveness of the new fixed dose of ASAQ prescribed by CHWs and administered by parents and guardians at home without supervision in Madagascar. The PCR-adjusted cure rate on day 42 varied between sites from 97.6% to 100%,

which was higher than the threshold of 90% recommended by WHO.^{18,24} The failure rates recorded were consistent with previous reports of therapeutic efficacy from studies carried out at the health-center level with non-fixed doses of ASAQ¹¹ and at the community level with various ACTs in Africa.²⁵ In the non-malaria group (M-/PCR-), more than 50% of the children were asymptomatic by day 42, which is consistent with febrile viral infections in these cases. We recorded only a few minor adverse events, such as diarrhea and sleepiness, and it was not possible to determine whether these adverse events were truly related to the antimalarial treatment. The levels of compliance with treatment reported during interviews with parents or guardians was consistently high (90.0%; 95% CI = 87.2–92.5%) and did not differ between sites. Our results were similar to those recently reported for Africa (81% in Uganda, 93% in Nigeria, and 97% in Ghana).²⁶

As suggested by Pagnoni,¹³ these data provide some reassurance concerning the likelihood of selecting drug-resistant parasites through exposure to sub-therapeutic levels of drugs.²⁷ However, the high degree of compliance observed in this study, which was not obtained under real life conditions, strongly suggests that CHWs must be trained in the correct use of antimalarial drugs. The packaging of antimalarial drugs in fixed-dose combination presentations is particularly important in ensuring compliance.

However, like all studies carried out under operational conditions, this study was subject to several limitations. First, compliance was assessed by the MO during interviews as part of the visit on day 3. Plasma drug concentration was not determined on day 7, but this method would provide a more reliable means of measuring compliance. Second, the diagnosis of malaria infections was assessed retrospectively and patient follow-up was based exclusively on the day 28 and day 42 visits.

In conclusion, our study provides important data on the safety and the effectiveness of the fixed-dose ASAQ in the context of HMM in Madagascar and compliance with this treatment, given current calls for the widespread use of ACT in the community.⁶ This study provides evidence that the HMM program in Madagascar using fixed-dose ASAQ can result in the delivery of effective drugs for treating malaria infections. However, use of rapid diagnostic tests as part of the HMM program in Madagascar should be considered to improve the targeting of antimalarial treatment to true cases of malaria, particularly in areas with low rates of transmission. Further studies are also urgently need to identify the causes of acute fever when diagnosis is negative for malaria to implement official recommendations to guide the management of patients who show negative results for rapid diagnostic tests.

Received January 21, 2011. Accepted for publication June 24, 2011.

Acknowledgments: We thank the villagers in Ampasimpotsy and Andasibe in Moramanga District and Andramora and Ambodivoahangy in Manakara District for their participation in the study; the medical team Dr. Gladys Somondrara, Dr. J. Randriamboavonjy, Gervais Razafimahatrata, Gladys Saroma, and Jasmin Velo for conducting field work; the Moramanga District Health Service, the Manakara District Health Service, the Ampasimanjeva Medical Foundation, SAF FJKM, Inter-Aide, the Reggio Terzzo Mondo, and the Madagascar National Malaria Control Program for their active involvement in the study; and Dr. Luciano Tuseo, Dr. Franco Pagnoni, and Professor Francois Dabis for their constructive advice.

Financial support: This study was supported by Population Service International, Inter-aide, the Ampasimanjeva Medical Foundation, the Ministry of Health of Madagascar (DULM, PNL, DRS Moramanga, Manakara), ADRA, Sanofi Aventis Paris (for providing CoarsucamTM), the local authorities (Ampasimpotsy, Mahatsara, Ambodivoahangy, Andramora), and SanteNet. Arsène Ratsimbaoa was supported by the Fondation Mérieux. Didier Ménard was supported by the French Ministry of Foreign Affairs.

Authors' addresses: Arsène Ratsimbaoa, Harintsoa Ravony, Jeanne-Aimée Vonimpaisomihanta, and Rogelin Raheerinjafy, Ministère de la Santé, du Planning Familial et de la Protection Sociale, Antananarivo, Madagascar, E-mails: _____. Martial Jahevitra, Rabenja Rapelanoro, and Jean De Dieu Marie Rakotomanga, Université d'Antananarivo, Antananarivo, Madagascar, E-mails: _____. Denis Malvy, Centre René Labusquière, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France, E-mail: _____. Pascal Millet, EA Pharmaceuticals and Analytical Methods for Neglected Diseases and Counterfeit Drugs, Bordeaux 2 University, Bordeaux, France, E-mail: _____. Didier Ménard, Malaria Molecular Epidemiology Unit, Institut Pasteur du Cambodge, Phnom Penh, Cambodia, E-mail: _____.

REFERENCES

1. Snow RW, Guerra CA, Mutheu JJ, Hay SI, 2008. International funding for malaria control in relation to populations at risk of stable *Plasmodium falciparum* transmission. *PLoS Med* 5: e142.
2. Foster S, 1995. Treatment of malaria outside the formal health services. *J Trop Med Hyg* 98: 29–34.
3. Kager PA, 2002. Malaria control: constraints and opportunities. *Trop Med Int Health* 7: 1042–1046.
4. Moerman F, Lengeler C, Chimumbwa J, Talisuna A, Erhart A, Coosemans M, D'Alessandro U, 2003. The contribution of health-care services to a sound and sustainable malaria-control policy. *Lancet Infect Dis* 3: 99–102.
5. Wiseman V, Scott A, Conteh L, McElroy B, Stevens W, 2008. Determinants of provider choice for malaria treatment: experiences from The Gambia. *Soc Sci Med* 67: 487–496.
6. World Health Organization, 2004. *Scaling Up Home-Based Management of Malaria: from Research to Implementation*. Geneva: World Health Organization.
7. World Health Organization, 2005. *The Roll Back Malaria Strategy for Improving Access to Treatment through Home Management of Malaria*. Geneva: World Health Organization WHO/HTM/MAL/2005.1101.
8. Greenwood B, Marsh K, Snow R, 1991. Why do some African children develop severe malaria? *Parasitol Today* 7: 277–281.
9. D'Alessandro U, Talisuna A, Boelaert M, 2005. Editorial: Should artemisinin-based combination treatment be used in the home-based management of malaria? *Trop Med Int Health* 10: 1–2.
10. Ratsimbaoa A, Randrianariveolosia M, Millet P, Soares JL, Rabarijaona L, Rakotoson B, Malvy D, Menard D, 2006. Use of pre-packaged chloroquine for the home management of presumed malaria in Malagasy children. *Malar J* 5: 79.
11. Andriantsoanirina V, Menard D, Tuseo L, Durand R, 2010. History and current status of *Plasmodium falciparum* antimalarial drug resistance in Madagascar. *Scand J Infect Dis* 42: 22–32.
12. Menard D, Ratsimbaoa A, Randrianariveolosia M, Rabarijaona LP, Raharimalala L, Domarle O, Randrianasolo L, Randriamanantena A, Jahevitra M, Andriantsoanirina V, Rason MA, Raheerinjafy R, Rakotomalala E, Tuseo L, Raveloson A, 2008. Assessment of the efficacy of antimalarial drugs recommended by the National Malaria Control Programme in Madagascar: up-dated baseline data from randomized and multi-site clinical trials. *Malar J* 7: 55.
13. Pagnoni F, 2009. Malaria treatment: no place like home. *Trends Parasitol* 25: 115–119.
14. Menard D, Barnadas C, Bouchier C, Henry-Halldin C, Gray LR, Ratsimbaoa A, Thonier V, Carod JF, Domarle O, Colin Y, Bertrand O, Picot J, King CL, Grimberg BT, Mercereau-Puijalon O, Zimmerman PA, 2010. *Plasmodium vivax* clinical malaria is commonly observed in Duffy-negative Malagasy people. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 5967–5971.
15. Barnes KI, Durrheim DN, Little F, Jackson A, Mehta U, Allen E, Dlamini SS, Tsoka J, Bredekamp B, Mthembu DJ, White NJ, Sharp BL, 2005. Effect of artemether-lumefantrine policy and improved vector control on malaria burden in KwaZulu-Natal, South Africa. *PLoS Med* 2: e330.
16. Depoortere E, Guthmann JP, Sipilanyambe N, Nkandu E, Fermon F, Balkan S, Legros D, 2004. Adherence to the combination of sulphadoxine-pyrimethamine and artesunate in the Maheba refugee settlement, Zambia. *Trop Med Int Health* 9: 62–67.
17. Depoortere E, Salvador ET, Stivanello E, Bisoffi Z, Guthmann JP, 2004. Adherence to a combination of artemether and lumefantrine (Coartem) in Kajo Keji, southern Sudan. *Ann Trop Med Parasitol* 98: 635–637.
18. World Health Organization, 2003. *Assessment and Monitoring of Antimalarial Drug Efficacy for the Treatment of Uncomplicated falciparum Malaria*. Geneva: World Health Organization.
19. World Health Organization, 1996. *Management of Uncomplicated Malaria and the Use of Antimalarial Drugs for the Protection of Travellers: Report of an Informal Consultation (WHO/MAL/96)*. Geneva: World Health Organization.
20. Mangold KA, Manson RU, Koay ES, Stephens L, Regner M, Thomson RB Jr, Peterson LR, Kaul KL, 2005. Real-time PCR for detection and identification of *Plasmodium* spp. *J Clin Microbiol* 43: 2435–2440.
21. Rakotonirina H, Barnadas C, Raheerinjafy R, Andrianantenaina H, Ratsimbaoa A, Randrianasolo L, Jahevitra M, Andriantsoanirina V, Menard D, 2008. Accuracy and reliability of malaria diagnostic techniques for guiding febrile outpatient treatment in malaria-endemic countries. *Am J Trop Med Hyg* 78: 217–221.
22. Cattamanchi A, Kyabayinze D, Hubbard A, Rosenthal PJ, Dorsey G, 2003. Distinguishing recrudescence from reinfection in a longitudinal antimalarial drug efficacy study: comparison of results based on genotyping of msp-1, msp-2, and glurp. *Am J Trop Med Hyg* 68: 133–139.
23. Hopkins H, Talisuna A, Whitty CJ, Staedke SG, 2007. Impact of home-based management of malaria on health outcomes in Africa: a systematic review of the evidence. *Malar J* 6: 134.
24. Ajayi IO, Browne EN, Bateganya F, Yar D, Happi C, Falade CO, Gbotosho GO, Yusuf B, Boateng S, Mugittu K, Cousens S, Nanyunja M, Pagnoni F, 2008. Effectiveness of artemisinin-based combination therapy used in the context of home management of malaria: a report from three study sites in sub-Saharan Africa. *Malar J* 7: 190.

25. Faucher JF, Aubouy A, Adeothy A, Cottrell G, Doritchamou J, Gourmel B, Houze P, Kossou H, Amedome H, Massougbdji A, Cot M, Deloron P, 2009. Comparison of sulfadoxine-pyrimethamine, unsupervised artemether-lumefantrine, and unsupervised artesunate-amodiaquine fixed-dose formulation for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Benin: a randomized effectiveness noninferiority trial. *J Infect Dis* 200; 57–65.
26. Ajayi IO, Browne EN, Garshong B, Bateganya F, Yusuf B, Agyei-Baffour P, Doamekpor L, Balyeku A, Munguti K, Cousens S, Pagnoni F, 2008. Feasibility and acceptability of artemisinin-based combination therapy for the home management of malaria in four African sites. *Malar J* 7: 6.
27. White NJ, 2004. Antimalarial drug resistance. *J Clin Invest* 113: 1084–1092.

3.2. Objectif 2 : Evaluation de l'intérêt de l'utilisation des tests de diagnostic rapide au niveau communautaire ou comment améliorer la prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans à Madagascar ?

Un diagnostic précoce et un traitement rapide et efficace des cas de paludisme simple restent une composante essentielle de la stratégie de lutte contre le paludisme à Madagascar afin de prévenir l'apparition de cas sévères de paludisme et de réduire la mortalité et la transmission du paludisme. Nous avons évalué l'intérêt de l'utilisation des TDR (Tests de Diagnostic rapide du paludisme) par les agents communautaires en comparant les performances diagnostiques des TDR vis-à-vis des méthodes de référence (microscopie et diagnostic moléculaire par PCR).

Huit agents communautaires travaillant dans 4 communes (deux en zone de haute transmission, district de Manakara et deux en zone de faible transmission, district de Moramanga) ont été formés à l'utilisation des TDR dans le cadre de la prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de cinq ans au niveau communautaire. Un diagnostic parasitologique systématique était effectué chez les enfants consultant les agents communautaires pour fièvre incluant la confection d'un frottis/goutte épaisse (examen microscopie), l'utilisation du TDR et le prélèvement d'une goutte de sang sur papier buvard (PCR diagnostic d'espèce). Les résultats du diagnostic parasitologique n'étant disponibles qu'a posteriori, tous les enfants étaient systématiquement traités par la combinaison artesunate plus amodiaquine. Une analyse rétrospective des résultats des différentes méthodes diagnostiques a été effectuée afin d'évaluer les performances diagnostiques des agents communautaires. Nous avons également évalué en parallèle la stabilité des TDR conservés par les agents communautaires.

Parmi les 1 073 enfants participants à l'étude, 543 ont présenté un épisode fébrile et ont consulté auprès de l'agent communautaire entre février 2008 et février 2010. L'analyse des échantillons de 190 enfants suspects de paludisme a permis de déterminer la fréquence des porteurs de parasites selon la méthode diagnostique utilisée : 89.5% avec la PCR, 51.6% avec la microscopie et 55.8% avec les TDR. Comparée à la microscopie, nous avons observés 91,6% de résultats concordants. Parmi les 8,4% résultats discordants, 25% étaient des faux négatifs (tous les isolats avaient une parasitémie inférieure à 1 000 parasites par μ l) et 75% étaient des faux positifs (avec dans plus de la moitié des cas, la seule présence de la bande HRP2). Les performances des agents de santé communautaire en termes de sensibilité, spécificité, VPP et VPN étaient supérieures à 85%. La concordance entre le

résultat de la microscopie et des TDR, estimée par la valeur Kappa était de 0,83 (95%IC: 0,75-0,91). Enfin, le contrôle de la stabilité des TDR conservés par les agents communautaires (effectués tous les 6 mois) était conforme pour *P. falciparum*.

L'introduction d'outils diagnostiques performants et facile d'emploi comme les TDR au niveau communautaire semble être une stratégie efficace pour améliorer la prise en charge des malades fébriles, pour réduire la surconsommation d'antipaludiques (et donc le coût des traitements inutilement utilisés) et pour réduire la pression de sélection exercée par cette surconsommation.

Mots clé : Paludisme, Diagnostic, TDR, sensibilité, spécificité, communautaire.

Introduction

Dans la plupart des pays endémiques, selon les recommandations de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), la mise en place d'un diagnostic rapide et fiable demeure essentielle pour réduire la morbidité et la mortalité due au paludisme, en particulier dans les zones les plus touchées comme les zones rurales et chez les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes (37). Le diagnostic du paludisme a pendant longtemps, et en particulier au niveau communautaire, été uniquement basé sur les signes cliniques (en particulier la fièvre) (38, 39). L'absence de spécificité du diagnostic clinique a conduit à sur-diagnostiquer et sur-traiter cette affection (4). Il est donc évident que l'introduction d'outils diagnostiques plus performants et faciles d'emploi devrait permettre d'améliorer la prise en charge des malades, de réduire la surconsommation d'antipaludiques (et donc le coût des traitements inutilement utilisés) et de réduire la pression de sélection exercée par cette surconsommation. Ceci reste d'actualité avec la baisse significative de l'endémie palustre depuis la mise en place de stratégies efficaces comme les MID et l'utilisation des ACT (3, 40). A ce jour, la microscopie reste le diagnostic de référence pour le diagnostic du paludisme en dépit de la nécessité de disposer d'un matériel de qualité et d'un personnel qualifié. Force est de constater que dans la plupart des pays endémiques, les formations sanitaires les plus périphériques n'ont pas la capacité d'effectuer un diagnostic microscopique de qualité (41, 42). Avec les nouvelles recommandations de OMS (43, 44) qui propose que pour chaque individu (toutes classes d'âge confondues) suspect de paludisme, un diagnostic parasitologique soit effectué avant la mise en place d'un traitement par ACT, les tests de diagnostic rapide du paludisme (TDR) apparaissent comme la

meilleure alternative à la microscopie surtout dans les zones dépourvues de microscope de qualité et de personnel qualifié (45).

Plusieurs tests immunochromatographiques pour détecter les antigènes spécifiques de *Plasmodium* sont disponibles. Certains sont spécifiques de *P. falciparum* et détectent la protéine HRP2 (Histidine Rich Proteine 2). D'autres combinent la détection de cet antigène avec la détection d'antigènes communs à toutes les espèces comme le lactate deshydrogénase ou l'aldolase. Ces TDR dits « combo » permettent de faire le diagnostic des infections à *P. falciparum* ou des *P. non falciparum* (*P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*). Actuellement, le programme National de lutte contre le paludisme (PNLP) à Madagascar a choisi d'utiliser le test combo CareStart[®] (Access Bio Inc[®], Somerset, NJ, USA). Depuis 2005, le PNLN a révisé sa politique en matière de traitement du paludisme et a décidé de remplacer la chloroquine par la combinaison artesunate plus amodiaquine. Ce changement a été suivi en 2007 de la mise en place de TDR au niveau des centres de santé dépourvus d'examen microscopique, en obligeant le personnel médicale à ne traiter avec des antipaludiques que les cas détectés positifs avec les TDR. Au niveau communautaire les mêmes recommandations concernant le traitement des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans ont été mises en place quelques années plus tard. Enfin, depuis cette année, le PNLN souhaitant améliorer la prise en charge des fièvres au niveau communautaire, se propose d'introduire l'utilisation des TDR par les agents communautaires.

Pour se faire, le PNLN a décidé de mettre en place une série d'études permettant de valider cette stratégie et en particulier de répondre à plusieurs questions clés relatives au choix des TDR, au coût de cette stratégie et à l'évaluation de la qualité par la mise en place d'un système d'assurance qualité. Bien que l'utilisation des TDR requiert une formation de base pour les agents communautaires, l'évaluation de la performance du diagnostic du paludisme avec les TDR (en termes de sensibilité et spécificité) ainsi que l'évaluation de la qualité des TDR utilisés au moment du diagnostic (problème concernant les conditions de stockage des tests par les agents communautaires) reste à déterminer.

C'est donc dans ce cadre que nous avons conduit une étude longitudinale (24 mois) dans deux zones, l'une à paludisme stable (district de Manakara, sur la côte Est) et l'autre à paludisme instable (district de Moramanga, sur les marges est des hautes terres centrales) pour évaluer les performances globales des TDR utilisés par les agents communautaires.

Matériels & Méthodes

Lieu de l'étude et participants

L'étude a été conduite entre février 2008 et février 2010 (24 mois) en parallèle avec une autre étude qui visait à évaluer les recommandations du PNLP concernant la prise en charge des fièvres au niveau communautaire par l'utilisation de la combinaison fixe « artésunate amodiaquine » chez les enfants de moins de 5 ans en zone de transmission stable (district de Manakara, communes d'Ampasimanjeva et de Vohimasy) et en zone de transmission instable (district de Moramanga, communes d'Ampasimpotsy et d'Andasibe). Pour cela, nous avons donc introduit les TDR de façon à évaluer leur intérêt dans les mains de 8 Agents Communautaires (2 par commune). Un diagnostic parasitologique systématique était effectué chez les enfants consultant les agents communautaires pour fièvre incluant la confection d'un frottis/goutte épaisse (examen microscopie), l'utilisation du TDR et le prélèvement d'une goutte de sang sur papier buvard (PCR diagnostic d'espèce). Les résultats du diagnostic parasitologique n'étant disponibles qu'a posteriori, tous les enfants étaient systématiquement traités par la combinaison artesunate plus amodiaquine.

Tous les enfants de moins de 5 ans ont été recensés dans les 4 communes des deux districts. Les critères d'inclusion étaient les suivants : i) tous les enfants âgés entre 2 à 59 mois au moment du recensement, ii) tous les enfants résidant en permanence dans la zone d'action de l'agent communautaire participant à l'étude , iii) tous les enfants dont les parents ou tuteurs acceptaient de signer un consentement éclairé au début de l'étude.

En tant qu'investigateur principal de l'étude, nous avons en charge la préparation et la validation des protocoles, l'organisation du travail sur le terrain et le contrôle de la qualité de l'étude. Dans chaque village, un agent communautaire assurait la prise en charge d'environ 150 enfants. Les agents communautaires participant à l'étude étaient des volontaires, désignés par les villageois, véritable relai entre les autorités sanitaires, les ONG et les villageois. Le niveau de formation de ces agents était limité à la connaissance de la lecture et de l'écriture (niveau d'étude situé entre la classe de 5^{ème} et de 3^{ème}).

Les agents communautaires du district de Moramanga étaient encadrés par l'ONG « ADRA Madagascar » et le centre de santé de base de niveau II de la commune. Ils avaient préalablement reçu des formations régulières sur les modalités de prise en charge des fièvres au niveau communautaire. En échange de leur participation, les agents communautaires recevaient des denrées alimentaires de première nécessité (huile, riz). Les agents communautaires de Vohimasy, à Manakara, étaient encadrés par l'ONG « Inter Aide » sous l'appellation : « maman ou papa conseils ». Ils avaient également reçu plusieurs formations sur les modalités de prise en charge des fièvres au niveau communautaire. Enfin

à Ampasimanjeva, les agents communautaires étaient encadrés par l'ONG « RTM ». Dans ces 2 communes, les agents recevaient en compensation de leur travail une aide des villageois pour entretenir leurs champs et une dotation annuelle de riz.

Au début de l'étude, chaque agent communautaire a reçu une formation de 3 jours portant sur le paludisme (généralités et signes cliniques), sur la confection des frottis minces et gouttes épaisses et la confection de blood spots. Une formation particulière leur était dispensée concernant l'utilisation et l'interprétation du TDR CareStart.

Déroulement de l'étude et Activité des agents communautaires

Tous les enfants participant à l'étude et présentant un épisode fébrile étaient inclus dans l'étude, suivant les critères suivants : âge 2 mois, température axillaire 37,5°C or fièvre depuis au moins 24 heures, enfants capables de recevoir un traitement oral. Les enfants présentant des signes de paludisme sévère ou d'autres infections mettant le pronostic vital en jeu étaient exclus de l'étude et référés au centre de santé le plus proche. A chaque visite, les agents communautaires effectuaient un prélèvement au bout du doigt pour préparer un frottis mince/goutte épaisse et un blood spot. Ils effectuaient en parallèle un TDR suivant les instructions reçus. Les prélèvements étaient ensuite stockés dans une pièce à l'abri de la lumière. Les résultats du TDR étaient notés dans un cahier prévu à cet effet. Sans tenir compte du résultat du TDR, tous les enfants étaient traités avec une dose fixe d'artesunate plus amodiaquine.

Analyses de laboratoire

Tous les 6 mois (à chaque visite de supervision), les lames, les TDRs et les blood spots étaient rapportés à l'Unité de Recherche sur le Paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM).

Examen microscopique des lames

La coloration et la lecture des lames ont été effectuées par deux microscopistes expérimentés à l'IPM. Après fixation au méthanol (uniquement la partie frottis), la lame est colorée au Giemsa à 10 % pendant 10 mn, séchée, puis examinée par microscopie à l'objectif X100 à immersion. La densité parasitaire (nombre de parasites par μ l) était estimée à partir de la goutte épaisse, sur la base du nombre de parasites asexués pour 200 globules blancs (ou pour 500 globules blancs si la parasitémie était inférieure à 10 parasites pour 200 globules blancs). La parasitémie était exprimée par μ l en estimant que la concentration moyenne des globules blancs était de 8 000 par μ l. Le frottis était déclaré négatif si aucun

parasite n'était observé après la lecture de 100 champs microscopiques. Le frottis mince était utilisé pour identifier le ou les espèce(s) plasmodiale(s). Les lames étaient lues indépendamment par deux microscopistes. La densité parasitaire finale était calculée à partir de la moyenne des densités parasitaires estimées. En cas d'écart de plus de 10% entre les 2 densités parasitaires, une troisième lecture était effectuée par un autre microscopiste. Un contrôle qualité a également été assuré au niveau du PNLP avec la relecture de 10 % des lames.

Extraction de l'ADN et diagnostic du paludisme par PCR

L'extraction de l'ADN à partir des blood spots a été réalisée à l'aide du kit Instagene matrix® (Bio-Rad®, Marnes la Coquette, France), en suivant les instructions du fabricant. La présence de parasites du paludisme à partir de l'extrait d'ADN a été recherchée par real-time PCR suivant la technique précédemment décrite sur l'automate RotorGene 3000 thermocycler (Corbett Life Science, Sydney, Australia), par des techniciens n'ayant pas accès aux résultats du diagnostic microscopique (46).

Contrôle de qualité des TDR

La stabilité à long terme des TDR conservés par les agents communautaires a été évaluée suivant le protocole développé par l'OMS/FIND/TDR décrit dans le "Methods manual for laboratory quality control testing of malaria rapid diagnostic tests" (47). Brièvement, le contrôle de la qualité des TDR a été effectué en février 2008 (avant la mise en place des TDR), puis tous les 6 mois et ce jusqu'à la fin de l'étude, sur des TDR recueillis chez les agents communautaires participant au projet. La qualité des TDR était contrôlée avec des aliquotes calibrées de *P. falciparum* et *P. vivax* (2000 et 200 parasites par μl) et des aliquotes négatives. Le test initial a été effectué sur 66 TDR en utilisant des aliquotes contrôles « *P. falciparum* » (4 séries de 4 dilutions à 2000 et 200 parasites/ μl), des aliquotes contrôles « *P. vivax* » (4 séries de 4 dilutions à 2000 et 200 parasites/ μl), et 10 aliquotes contrôles « négatifs ». Pour les tests effectués tous les 6 mois, 14 TDR par site ont été utilisés avec des aliquotes contrôles « *P. falciparum* » (2 séries de 2 dilutions à 2000 et 200 parasites/ μl), des aliquotes contrôles « *P. vivax* » (2 séries de 2 dilutions à 2000 et 200 parasites/ μl), et 2 aliquotes contrôles « négatifs ».

Analyse des données

Toutes les données ont été enregistrées, nettoyées et analysées avec les logiciels EpiInfo (version 3.3.2, CDC, Atlanta, GA) et MedCalc (MedCalc Software, Broekstraat 52, 9030 Mariakerke, Belgium). Le test Chi2 a été utilisé pour comparer les performances des différentes méthodes diagnostiques utilisées (PCR, microscopie et TDR). Une valeur P inférieure à 0,05 était considérée comme statistiquement significative. Pour évaluer la sensibilité et la spécificité, les résultats de la microscopie et du TDR étaient comparés à ceux de la PCR. La sensibilité était calculée comme la proportion de test positif parmi les échantillons trouvés positifs avec la méthode de référence choisie. La spécificité était estimée comme la proportion de test négatif parmi les échantillons trouvés négatifs avec la méthode de référence choisie. Les valeurs prédictives positives et négatives (VPP et VPN) ont été également calculées comme la proportion de résultats « vrai-positifs » ou « vrai-négatifs » parmi les échantillons trouvés positifs ou négatifs avec la méthode de référence choisie. Enfin le calcul de la valeur Kappa a permis d'estimer la concordance entre les techniques diagnostiques. Une valeur comprise entre 0,21 et 0,60 était considérée comme une « concordance modérée », une valeur comprise entre 0,61 et 0,80 comme une « bonne concordance » et une valeur supérieure à 0,80 comme une « excellente concordance ».

Composante Ethique

L'étude a été menée dans le respect de la déclaration d'Helsinki et de la loi Malagasy. Le protocole a été soumis et approuvé par le Comité d'Ethique National Malagasy (N°153/SANPF/2007). Un consentement éclairé signé a été obtenu de la part des parents ou tuteur légal de l'enfant. Si les parents ou tuteur ne savaient pas signer, une empreinte digitale était faite. Si les parents ou responsables d'enfants ne savaient pas lire, le consentement leur était lu en dialecte local. Dans ce cas, la présence d'un témoin était nécessaire pour la signature du consentement. Ce protocole a été enregistré dans le registre d'étude clinique www.clinicaltrials.gov sous l'identification NCT00612547.

Résultats

Recrutement des patients.

Entre février 2008 et février 2010 (24 mois), 1 073 enfants ont participé à l'étude. Parmi eux, 543 ont présenté un épisode fébrile et ont consulté auprès de l'agent communautaire : 422 ont présenté un seul épisode au cours de la période d'étude, 99 deux épisodes, 19 trois épisodes, 2 quatre épisodes et 1 cinq épisodes. Aucune différence significative concernant

le nombre d'épisodes n'a été notée entre les sites (Ampasimanjeva, n=309, Vohimasy, n=118, Ampasimpotsy, n=63 et Andasibe, n=53, P=0.8). De même, nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les communes concernant le sex-ratio. En revanche, l'âge moyen des enfants consultant était significativement plus élevé en zone de faible transmission (Tableau 1).

Résultats de la PCR.

Parmi les 529 échantillons analysés, 271 (51,2%) étaient positifs, uniquement pour *P. falciparum*. Le pourcentage d'enfants fébriles et porteurs de parasites était environ deux fois plus élevé en zone de forte transmission (56,7% vs. 31,9%, P<0,0001). Les détails sont donnés dans les Tableaux 1 et 2.

Résultats de la microscopie

Parmi les 529 lames examinées, 197 (37,2%) étaient positives. *Plasmodium falciparum* a été la seule espèce retrouvée. Ce pourcentage n'était pas différent selon les sites. L'étendue des densités parasitaires pour les lames positives était comprise entre 48 et 82 000 parasites par μ l. La moyenne des densités parasitaires en fonction des sites n'était pas significativement différente (Tableaux 1 et 2).

Résultats des TDR

Parmi les 190 tests effectués par les agents communautaires, 106 (55,8%) étaient positifs : 94 tests ont détectés les 2 antigènes (HRP2 et pLDH) et 12 tests n'ont détecté que la bande HRP2 (Tableau 2).

Comparés à la PCR, nous avons trouvé 124 résultats concordants (65,3%) et 66 résultats discordants (34,7%, 98,5% de faux négatifs et 1,5% de faux positifs). Les résultats étaient similaires entre les 2 zones : en zone de forte transmission, 64,3% de concordants et 35,7% de discordants (100% de faux négatifs) et en zone de faible transmission, 72,7% de concordants et 27,3% de discordants (83,0% de faux négatifs et 17,0% de faux positifs). Tous les faux positifs étaient des TDR présentant uniquement la bande HRP2.

Comparés à la microscopie, nous avons observé 174 résultats concordants (91,6%) et 14 résultats discordants (8,4%, 25% de faux négatifs et 75% de faux positifs). Les résultats étaient similaires entre les 2 zones : en zone de forte transmission, 91,6% de concordants et 8,4% de discordants (21,4% de faux négatifs et 78,6% de faux positifs) et en zone de faible transmission, 88,8% de concordants et 11,2% de discordants (50,0% de faux négatifs et 50,0% de faux positifs). Seul 6 sur 11 faux positifs étaient des TDR présentant

uniquement la bande HRP2. Les 4 faux négatifs en TDR correspondaient à des isolats ayant une parasitémie inférieure à 1000 parasites par μ l.

Performances des TDR pour le diagnostic du paludisme au niveau communautaire

Les performances du TDR ont été évaluées en prenant soit la PCR soit la microscopie comme technique de référence. L'analyse a été faite selon les zones de transmission (Tableau 3 et 4). Globalement, les performances des TDR par rapport à la PCR ont été faibles pour la sensibilité et la VPN. En revanche, la spécificité et la VPP étaient proches de 100%. La même tendance était observée dans les 2 zones de transmission (le nombre de résultats TDR pour la zone de faible transmission était trop faible pour observer des résultats précis). Comparées à la microscopie, les performances des agents de santé communautaire (sensibilité, spécificité, VPP et VPN) étaient supérieures à 85%.

Enfin le calcul de la valeur Kappa entre la PCR, la microscopie et les TDR montraient une bonne concordance entre la PCR et la microscopie (0,72, 95%IC: 0,66-0,78) et entre la microscopie et le TDR (0,83, 95%IC: 0,75-0,91). En revanche la valeur Kappa était très faible entre la PCR et le TDR (0,23, 95%IC : 0,14-0,33).

Stabilité des TDR conservés au niveau communautaire.

Tous les contrôles effectués sur les TDR avant distribution (test initial) étaient conformes. Concernant les tests effectués tous les 6 mois, tous les contrôles étaient conformes sauf pour les TDR prélevés à 18 mois et 24 mois. Sur ces TDR, les contrôles *P. falciparum* et négatifs étaient conformes mais les contrôles *P. vivax* à 200 parasites par μ l étaient non conformes.

Tableau 1. Caractéristiques des patients inclus dans l'étude, Madagascar, 2008-2010

Caractéristiques des patients	Sites d'étude						P
	Forte transmission		Faible transmission				
	Ampasimanjeva	Vohimasy	Ampasimpotsy	Andasibe			
Nombre d'individus	281	258	299	235		-	
Moyenne d'âge (mois)	28.6	26.5	30.1	31.5		0.009	
Sex ratio (M/F)	1	0.87	0.86	0.94		NS	
Nombre d'épisode fébrile	309	118	63	53		NS	
% de PCR positives	0,56	0,58	0,33	0,30		<0,0001	
% de lames positives	0,37	0,43	0,32	0,25		NS	
Moyenne des densités parasitaires (étendue), parasite/ μ l	2,805 (48-76,760)	2,835 (64-82,000)	1,540 (64-37,250)	2,190 (880-12,750)		NS	

Tableau 2. Comparaison des résultats obtenus au cours de notre étude, selon la méthodes diagnostic utilisées (PCR, microscopie et TDR à gauche et microscopie et TDR à droite), tous sites confondus (a) et en en fonction de la zone de transmission (b : zone de forte transmission, c : zone de faible transmission), Madagascar, 2008-2010

Tableau 2a

Nested PCR		Microscopie		TDR		
Resultats	n (%)	Negatif	<i>Pf</i>	Negatif	HRP2+	HRP2/pLDH+
Negatif	258 (48.8)	258	0	19	1	0
<i>Pf</i>	271 (51.2)	74	197	65	11	94

Microscopie		TDR		
Resultats	n (%)	Negatif	HRP2+	HRP2/pLDH+
Negatif	92 (48,4)	80	7	5
<i>Pf</i>	98 (51,6)	4	5	89

Tableau 2b

Nested PCR		Microscopie		TDR		
Resultats	n (%)	Negatif	<i>Pf</i>	Negatif	HRP2+	HRP2/pLDH+
Negatif	179 (43,3)	179	0	18	0	0
<i>Pf</i>	234 (56,7)	70	164	60	11	79

Microscopie		TDR		
Resultats	n (%)	Negatif	HRP2+	HRP2/pLDH+
Negatif	86 (51,2)	75	6	5
<i>Pf</i>	82 (48,8)	3	5	74

Tableau 2c

Nested PCR		Microscopie		TDR		
Resultats	n (%)	Negatif	<i>Pf</i>	Negatif	HRP2+	HRP2/pLDH+
Negatif	79 (68,1)	79	0	1	1	0
<i>Pf</i>	37 (31,9)	4	33	5	0	15

Microscopie		TDR		
Resultats	n (%)	Negatif	HRP2+	HRP2/pLDH+
Negatif	6 (27,3)	5	1	0
<i>Pf</i>	16 (72,7)	1	0	15

Tableau 3: Performances (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et négatives) de la microscopie et des TDR par rapport à la PCR (utilisée comme méthode de référence) selon la zone de transmission, Madagascar, 2008-2010.

Globale	Methodes diagnostiques	
	Microscopie	RDT
Sensibilité (95% IC)	72.7 (67.0-77.9)	61.8 (54.0-69.1)
Spécificité (95% IC)	100.0 (98.5-100.0)	95.0 (75.1-99.9)
VPP (95% IC)	100.0 (98.1-100.0)	99.0 (94.9-100.0)
VPN (95% IC)	77.7 (72.8-82.1)	22.6 (14.2-33.1)
Forte transmission	Methodes diagnostiques	
	Microscopy	RDT
Sensibilité (95% IC)	70,1 (63,8-75,9)	60,0 (51,7-67,9)
Spécificité (95% IC)	100,0 (97,9-100,0)	100,0 (81,5-100,0)
VPP (95% IC)	100,0 (97,8-100,0)	100,0 (96,0-100)
VPN (95% IC)	71,9 (65,9-77,4)	23,1 (14,3-34,0)
Faible transmission	Methodes diagnostiques	
	Microscopy	RDT
Sensibilité (95% IC)	89,2 (74,6-97,0)	75,0 (50,9-91,3)
Spécificité (95% IC)	100,0 (95,4-100,0)	50,0 (1,3-98,7)
VPP (95% IC)	100,0 (89,4-100,0)	93,7 (69,8-99,8)
VPN (95% IC)	95,2 (88,1-98,7)	16,7 (0,4-64,1)

Tableau 4: Performances (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et négatives) des TDR par rapport à la microscopie (utilisée comme méthode de référence) selon la zone de transmission, Madagascar, 2008-2010.

	Globale	Forte transmission	Faible transmission
Sensibilité (95% IC)	95,9 (89,9-98,9)	90,2 (81,7-95,7)	93,7 (69,8-99,4)
Spécificité (95% IC)	87,0 (78,3-93,1)	87,2 (78,3-93,4)	83,3 (35,9-99,6)
VPP (95% IC)	88,7 (81,1-94,0)	87,1 (78,0-93,4)	72,7 (49,8-89,3)
VPN (95% IC)	95,2 (88,2-98,7)	90,4 (81,9-95,8)	93,7 (69,8-99,8)

Discussion

A Madagascar, la prise en charge intégrée des syndromes fébriles au niveau communautaire reste l'une des stratégies prioritaires du PNLP afin de fournir aux populations les plus démunies, un diagnostic et un traitement antipaludique efficace dans les 24 heures suivant le début de l'accès fébrile. Cette stratégie s'appuie, de fait, sur un système déjà éprouvé depuis de nombreuses années associant les agents communautaires et le personnel travaillant dans les centres de santé. Le projet de recherche opérationnelle, évaluant l'utilisation des ACTs et la mise en place des TDR, conduit à travers un réseau d'agents communautaires déjà existant et opérationnel, nous a permis d'obtenir des données fiables sur les capacités « diagnostique » et « thérapeutique » de ces agents. Malgré les difficultés rencontrées pour établir un consensus sur le type de TDR à utiliser à Madagascar, le PNLP a choisi d'introduire les TDRs de type « combo » détectant à la fois les antigènes HRP2 (spécifiques de *P. falciparum*) et pLDH (spécifiques des 4 espèces de *Plasmodium*, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*) (6, 46, 48, 49).

Pour évaluer les performances des TDR utilisés par les agents communautaires, nous avons choisi de comparer leurs résultats avec ceux obtenus par les deux méthodes le plus communément utilisées : la PCR qui possède les meilleures performances en termes de sensibilité et de spécificité du fait de son seuil de détection très bas (< 1 parasite par μ l) et la microscopie qui reste encore le diagnostic de référence selon l'OMS malgré son seuil de détection plus élevé (10-50 parasites par μ l) (50). Au cours des 24 mois de l'étude, nous n'avons observé aucune différence significative entre le nombre d'épisodes fébriles chez les enfants consultant les agents communautaires entre les deux zones d'étude de forte et de faible transmission. La seule différence notable était l'âge des enfants consultants qui était plus élevé en zone de faible transmission (~ + 3 mois, $P=0.009$).

D'un point de vue épidémiologique, nous avons constaté l'importance du poids du paludisme dans les deux zones d'étude grâce à l'utilisation de la PCR. En moyenne, 51.2% des enfants consultant les agents communautaires étaient porteurs de parasites, proportion quasiment deux fois plus importante en zone de forte transmission qu'en zone de faible transmission (56.7% vs. 31.9%, $P<0,0001$). En revanche, cette différence n'était pas observée en utilisant la microscopie comme méthode diagnostique (37.2% en moyenne), montrant tout l'intérêt des méthodes moléculaires dans l'étude de la situation épidémiologique du paludisme (51, 52). De plus, nous avons noté que tous les enfants porteurs de parasites étaient uniquement infectés par *P. falciparum*, espèce largement prédominante à Madagascar (53, 54). En revanche, la microscopie nous a permis de mesurer l'étendue des densités parasitaires (entre 48 et 82 000 parasites par μ l). En dépit de l'absence de significativité, nous avons

constaté que la moyenne des densités parasitaires était plus élevée en zone de forte transmission (2800 parasites par μl vs. 1500-2200 parasites par μl), compatible avec l'idée de l'existence d'un seuil « pyrogénique » plus élevé en zone de forte transmission et en-dessous duquel les patients ne souffriraient pas de paludisme « maladie » (55, 56).

D'un point de vue pratique, nous n'avons pas observé de difficultés majeures quant à l'utilisation des TDR par les agents communautaires, comme cela a été souvent signalé dans de précédentes études (57, 58). La formation avant le début de l'étude, les outils de collecte de données simplifiés mis à la disposition des agents communautaires ainsi que la supervision de leur activité par les médecins superviseurs ont permis l'introduction aisée des TDR (6). La facilité d'utilisation des TDR a également permis d'éviter de nombreuses erreurs de manipulation ou d'interprétation. Les quelques difficultés relevées auprès des agents communautaires étaient surtout liées à la quantité de sang prélevé au niveau du bout du doigt (surtout pour les très jeunes enfants) ou à la lecture et l'interprétation du résultat de certains tests comme cela a été préalablement noté par Seidahmed *et al.* (59).

L'étude des performances des TDR réalisés par les agents communautaires a été effectuée en comparant les résultats obtenus avec la PCR d'une part et la microscopie (lue par un microscopiste expert) d'autre part. Parmi les 190 tests effectués, 106 (55,8%) étaient positifs : 94 tests ont détecté les 2 antigènes (HRP2 et pLDH) et 12 tests n'ont détecté que la bande HRP2. Ces résultats étaient concordants dans 65,3% des cas avec la PCR et 91,6% avec la microscopie. Ils étaient similaires pour tous les agents communautaires quelle que soit la zone d'étude. Les discordances observées entre les TDR et la PCR ou la microscopie étaient surtout liées au seuil de détection des différentes techniques (résultats classés faussement négatifs avec des parasitemies inférieures à 1000 parasites par μl) comme cela a souvent été observé que ce soit au niveau des centres de santé (46, 49, 50, 60, 61) ou au niveau communautaire (62-65). Les faux positifs (détection de l'antigène HRP2 uniquement) correspondaient à la détection d'une infection palustre ancienne (et correctement traitée) et étaient liés à la persistance de l'antigène HRP2 dans la circulation sanguine (jusqu'à 3 semaines après une infection palustre) (66-68). Globalement, nous avons réussi à démontrer au cours de cette étude, que les performances des TDRs utilisés par les agents communautaires étaient similaires aux performances de la microscopie effectuée par un microscopiste expérimenté. La sensibilité des TDR comparés à la microscopie était excellente (95,9%) que ce soit en zone de forte transmission (90,2%) ou en zone de faible transmission (93,7%). La spécificité était en revanche plus faible (87,0%) comme cela a été préalablement montré (67, 69, 70). Au final, nous avons trouvé une excellente valeur

prédictive négative (VPN) de 95.2%. Ces bons résultats permettent donc d'envisager la possibilité de faire un diagnostic de paludisme de qualité dans les zones qui en ont le plus besoin. Si les agents communautaires n'avaient traité que les patients trouvés positifs avec les TDR, ils auraient évité une surconsommation d'ACT de 79%. Seuls quatre patients (négatifs en TDR et positifs en microscopie), soit 2% des patients vus en consultation, n'auraient pas reçu de traitement antipaludique. Ces quatre patients qui avaient une parasitémie très faible (moins de 1000 parasites par μ l) auraient de toute façon pu être dépistés positifs un ou deux jours plus tard par l'agent communautaire si les signes cliniques avaient persisté.

Autre signe encourageant pour la mise en place des TDR au niveau communautaire a été de constater la très bonne stabilité de ces tests au cours du temps, même conservés dans des conditions par toujours idéales par les agents communautaires.

En revanche, les avantages potentiels liés à la négativité du TDR (et donc à l'exclusion d'une infection palustre) n'ont pas pu être exploités dans notre étude. Toutefois, sur la base des résultats de la PCR, nous avons observé que 49% des enfants fébriles consultant les agents communautaires ne présentaient pas d'infection palustre. Ceci était fortement plus marqué en zone de faible transmission (68.1%) qu'en zone de forte transmission (43.3%). Ces données montrent que cette stratégie reste limitée au diagnostic du paludisme alors que cette affection ne représente qu'une partie des étiologies des fièvres vues au niveau communautaire. Il est clair que de nouvelles études doivent être conduites afin de découvrir les agents étiologiques non palustres responsables de fièvre ainsi que de développer des algorithmes simples (cliniques, si possible biologiques et thérapeutiques) permettant de mieux prendre en charge les cas de fièvres non palustre.

Conclusion

Nos résultats indiquent que la prise en charge des cas de fièvres chez les enfants de moins de cinq ans par les agents communautaires est souhaitable et envisageable surtout en milieu rural comme à Madagascar où beaucoup d'individus vivent à une distance considérable des établissements de soins (71, 72). Même si le rôle des agents communautaires dans la prise en charge des malades reste un sujet de débat, notre étude suggère que l'utilisation des TDR par les agents communautaires permette d'améliorer l'accès à une prise en charge de qualité des sujets atteints de paludisme simple.

Il semble évident qu'une telle stratégie devrait permettre de réduire considérablement les cas sévères de paludisme chez les jeunes enfants et d'éviter de nombreux décès et de réduire la surconsommation d'antipaludiques et donc le risque d'émergence et de diffusion de parasites résistant aux ACT. Reste maintenant pour le PNLN à évaluer précisément le coût et la rentabilité de cette stratégie en fonction des différents faciès épidémiologiques (en particulier pour le faciès sub-désertique dans le sud et le faciès tropical sur la côte ouest) (73, 74) et de mettre en place de nouvelles études pour améliorer la gestion des fièvres non palustres quand le résultat des TDR est négatif.

Remerciements

Nous tenons à remercier tous les participants à cette étude, en particulier les habitants des villages d'Andasibe et d'Ampasimpotsy dans le district de Moramanga et ceux des villages d'Andramora et d'Ambodivoahangy dans le district de Manakara. Nous remercions également sincèrement les autorités administratives et sanitaires du district de Manakara et Moramanga, PSI Madagascar, Inter aide, ADRA, SAF FJKM, RTM, la Fondation Médical d'Ampasimanjeva, le Ministère de la Santé Publique, l'Université d'Antananarivo et le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux de Madagascar. Enfin un grand merci à tous les médecins superviseurs et les techniciens pour leur aide précieuse.

Financement

Le financement de cette étude a été assuré par l'USAID (PSI, Santé net), Inter aide, RTM, la Fondation Médical d'Ampasimanjeva, le Ministère de la Santé Publique, l'Université d'Antananarivo, l'Institut Pasteur de Madagascar et le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux de Madagascar.

3.3. Objectif 3 : Situation épidémiologie du paludisme au niveau communautaire et évaluation de l'impact des stratégies de lutte actuellement mises en œuvre.

Les résultats de la lutte contre le paludisme obtenus entre les années 2000 et 2010 montrent une baisse importante de la morbidité et de la mortalité palustres à Madagascar. Le Programme National de Lutte contre le Paludisme a décidé de l'arrêt progressif du traitement systématique des fièvres avec un antipaludique sur la base de l'utilisation systématique du test de diagnostic rapide (TDR) au niveau communautaire. Devant la nécessité de connaître la prévalence annuelle des enfants porteurs sains associée à une mesure de la morbidité palustre afin de mieux cerner les besoins annuels en TDR et antipaludiques, nous avons conduit une étude au niveau communautaire ayant pour objectif de mesurer les indicateurs liés à la morbidité palustre et préciser les facteurs de risque de fièvres au cours de l'année, dans une commune rurale.

Nous avons conduit, entre les mois d'octobre 2009 à avril 2011, une étude longitudinale auprès d'enfants âgés de moins de 5 ans au début de l'étude, dans la commune d'Ampasimanjeva. L'étude reposait sur une série de Dépistages Actifs (DA) réalisés chez les enfants asymptomatiques tous les 4 mois (octobre 2009, février 2010, juin 2010, octobre 2010, et février 2011). Un suivi longitudinal passif (DP) des fièvres à l'admission au dispensaire a été réalisé auprès des agents communautaires de février 2009 à mars 2011.

Un total de 1932 enfants ont été recensés. En dépistage actif, la prévalence parasitaire moyenne du paludisme dans la commune d'Ampasimanjeva, une zone endémique à forte transmission était d'environ 9%. L'analyse multi variée confirme la variation des prévalences parasitaires en fonction des villages, de l'âge, du mois, et de la température corporelle. Sur la base de la fréquentation du dispensaire, Le taux d'incidence annuel du paludisme était de 2,5 cas/100 personnes-mois, pour un taux d'incidence annuelle des fièvres de 31,25 cas/100, soit 12,5 fois plus élevé. Les causes de fièvres non palustres étaient en majorité des infections respiratoires d'origines virales ou bactériennes. Des mois de juillet à octobre, le risque de contracter le paludisme était faible. Par contre, la mesure du risque en fonction de l'âge démontre une vulnérabilité des enfants âgés de 5 à 7 ans à la fin de l'étude. Ces résultats démontrent une variabilité du risque d'acquisition du paludisme dans le courant de l'année, ainsi que la nécessité d'inclure les enfants d'un âge supérieur à 5 ans dans les programmes de prise en charge des fièvres au niveau communautaire

Mots clés : paludisme – prévalence – Incidence - facteurs des risques communautaire.

Introduction

L'élimination du paludisme reste une priorité du Programme national de lutte contre le paludisme à Madagascar (75). Les résultats obtenus entre les années 2000 et 2010 montrent une baisse importante de la morbidité et de la mortalité palustres depuis la mise en place successive des différentes stratégies de prévention et de traitement au cours de cette période (76, 77). Le taux d'incidence du paludisme clinique sur l'ensemble de la population est passé de 90 pour 1000 en l'an 2000 à moins de 10 pour 1000 pendant l'année 2010. Sur la même période, la mortalité hospitalière tout âge confondu est passée de 4,3 à 1,3 pour 100 000 et, chez les moins de cinq ans de 9,4 à 4,7 pour 100 000. La mortalité proportionnelle des enfants de moins de 5 ans est passée de 25,9 % à 7,2 %, soit une réduction de plus de 70%. Il est à noter que les données de 2000 à 2007 concernent les cas du paludisme présumés sur la base des fièvres alors que celles de 2008 – 2011 ont été collectées à partir des cas de paludisme confirmé par TDR (78, 79, 80). En effet, l'OMS ayant recommandé l'utilisation des tests de diagnostic rapide (TDR) en l'absence de la microscopie, le Plan d'action de la Politique Nationale Malagasy de Lutte contre le Paludisme a décidé de l'arrêt progressif du traitement systématique des fièvres avec un antipaludique, et la mise en œuvre, depuis 2007, de l'utilisation systématique du TDR au niveau des Centres de Santé de Base (CSB). Par la suite, cette politique a été étendue au niveau communautaire à partir de l'année 2011 alors qu'auparavant, les agents communautaires traitaient toutes fièvres par des antipaludiques (27, 81).

A partir de 2009, la prise en charge intégrée de la maladie de l'enfant au niveau communautaire a été mise en place. Toutefois, nous disposons d'indicateurs limités concernant la morbidité ou la mortalité pour vérifier l'efficacité des moyens mis en œuvre. En particulier, une bonne connaissance de la prévalence annuelle des enfants porteurs de *Plasmodium*, associée à une mesure de la morbidité palustre, nous permettrait de mieux cerner les besoins en TDR et en ACT, et pouvoir ainsi prévoir les quantités annuelles nécessaires à commander auprès des bailleurs. D'autre part, une bonne connaissance des étiologies des fièvres pédiatriques permettrait d'identifier les priorités de santé publique au-delà du paludisme.

C'est pourquoi nous avons conduit une étude au niveau communautaire ayant pour objectif de mesurer les indicateurs liés à la morbidité palustre et préciser les facteurs de risque de fièvres au cours de l'année, dans une commune rurale où le paludisme est endémique.

Matériels & Méthodes

Nous avons conduit une étude longitudinale auprès d'enfants de moins de 5 ans dans la commune d'Ampasimanjeva entre octobre 2009 à avril 2011. L'étude reposait sur une série de Dépistages Actifs (DA) réalisés tous les 4 mois (octobre 2009, février 2010, juin 2010, octobre 2010, et février 2011). En parallèle, un suivi longitudinal passif (DP) des fièvres a été réalisé auprès des agents communautaires de février 2009 à mars 2011.

Sites d'étude et population étudiée

Sites de l'étude (82)

L'étude s'est déroulée au niveau communautaire dans la commune d'Ampasimanjeva, composée de 7 villages : Ambohimandroso, Ampasimanjeva, Andramora, Ankazondrano, Antaimby, Antsarandrano, tanambao. La commune est située dans le district de Manakara, région de Vatovavy Fitovinany (Madagascar), à 72 km au nord de Manakara (60km de route bitumée puis 12 km de piste ; latitude 21°44'00", longitude 48°02'00, à 10 mètres au dessus du niveau de la mer). Il y règne un climat de type tropical, chaud et humide, où la pluviométrie moyenne atteint 2000 mm par an. La température moyenne est de 26°8 (minimum 10°C; maximum 32°C). Le nombre d'habitants de la commune d'Ampasimanjeva était de 31 200 habitants en 2009, les ethnies prédominantes étant les Antefasy et les Antemoro. La majorité de la population se trouve dans le secteur primaire avec prédominance de culture de rapport (café, girofle) accompagné de cultures vivrières (riz, manioc, patate douce). L'ONG italienne RTM (Reggio Terzo Mondo) est implantée dans cette commune et travaille surtout sur la prévention du paludisme et de la filariose. L'ONG a formé des ACs pour la prise en charge des fièvres au niveau communautaire.

Taille de l'échantillon

Il s'agit d'une étude exhaustive. L'effectif global était basé sur l'ensemble des 2000 enfants de 2 à 59 mois recensés dans les deux communes au début de l'étude (en octobre 2009).

Critères d'inclusion : (i) Tous les enfants âgés de 2 à 59 mois au moment du recensement ; (ii) résidant dans la zone de travail de l'AC retenu dans l'étude ; (iii) pour lesquels nous avons obtenu le consentement des responsables de l'enfant au début de l'étude.

Critères d'inclusion pour le suivi au niveau communautaire (i) enfant de 2 à 59 mois présentant une histoire de fièvre dans les 24h précédent ou température axillaire $\geq 37^{\circ}5C$ sans correction, sans signe de gravité ; (ii) capable de recevoir un traitement par voie orale.

Déroulement de l'étude

L'étude s'est déroulée dans les villages auprès des agents communautaires au niveau de la commune et des agents de santé au niveau du centre de référence (Centre de Santé existant). Les agents communautaires ont été suivis par des médecins superviseurs : Reggio Terzo Mondio (RTM), Université d'Antananarivo, Programme National de Lutte Contre le Paludisme (PNLP), CICM (Centre Infectiologie Charles Mérieux).

La conception de l'étude était basée sur des Dépistages Actifs (DA) réalisés tous les 4 mois (octobre 2009, février 2010, juin 2010, octobre 2010 et, février 2011). Une distribution de Moustiquaires imprégnées a été faite après le premier DA en octobre 2009. Tous les enfants ayant consulté l'AC et ne présentant pas de paludisme (TDR négatif) étaient référés au niveau du Centre de Santé

Recensement

Les étapes suivantes ont été effectuées dans l'ordre chronologique dans la commune d'Ampasimanjeva: Pour tout enfant de 2 à 59 mois au moment du recensement au début de l'étude, une fiche de recensement a été remplie. Si les critères d'inclusion étaient remplis, un numéro a été attribué à l'enfant et un cahier d'observation a été créé.

Tâches des agents communautaires

Dépistage Actif (DA) : Pour tout enfant inclus dans l'étude lors du recensement, un confetti a été réalisé lors d'une visite systématique tous les 4 mois. Les enfants ayant un TDR positif ont été traités.

Dépistage Passif (DP)

Temps J0 : Le responsable de l'enfant amène son enfant fébrile à l'agent communautaire à J0. Un cahier de suivi est établie par enfant inclus ; lors de la consultation de l'enfant auprès de l'agent communautaire, la fiche d'observation J0 est remplie ; Prise de température, Confection d'un confetti, Réalisation d'un TDR. Si TDR (+) : administration d'un traitement (Paracétamol et ACT), Si TDR (-): référence vers le centre de référence – administration de Paracétamol.

Temps J0 à J3 : En cas de non régression ou d'aggravation des signes cliniques ou en cas de survenue d'évènements indésirables, le responsable de l'enfant doit consulter l'agent communautaire. Ce dernier est alors chargé de remplir le carnet de l'enfant et de le référer au centre de référence.

Temps J3 : L'enfant inclus est revu systématiquement à J3 par l'agent communautaire qui remplit la fiche d'observation J3. Tous les évènements indésirables sont notés dans les fiches « évènements indésirables » à J3.

Tâches des médecins

Médecins de Centre de référence : lors de la revue mensuelle des agents communautaires, évaluation de la qualité du travail des agents communautaires et résolution des problèmes, collecte des données, collecte des confettis et des TDR, gestion des intrants.

Lors des consultations : Enfants fébriles auto référés; enfants fébriles TDR (-) au niveau communautaire ; à l'évaluation des agents communautaires.

Tâches des médecins superviseurs

Une supervision a été assurée tous les 2 mois par un médecin d'Antananarivo.

Critères de sélection des agents communautaires : (i) Les agents communautaires sont choisis par leur communauté selon les critères principaux suivants : savoir lire et écrire, résider dans leur lieu d'élection et, être de bonne réputation. Après leur élection, le maire formalise leur situation en rédigeant un arrêté communal. Ces agents communautaires sont formés par le médecin chef du centre de référence de leur localité et travaillent sous sa direction. Au cours de l'étude, 35 agents communautaires ont été sélectionnés.

Plan d'analyse

Phase exploratoire

Elle consistait à examiner la distribution des variables, leur cohérence et à identifier les valeurs manquantes ou aberrantes.

Phase descriptive

Les résultats des analyses descriptives conduites seront présentés sous forme de moyennes, de médianes ou de proportions avec leurs paramètres de dispersion habituels tels l'écart type et les interquartiles. Cette analyse descriptive a concerné l'ensemble des variables collectées.

Phase analytique bi-variable et multi-variable

Dépistage actif : L'analyse descriptive a été complétée par des analyses plus approfondies. Pour cela, les associations entre la variable d'intérêt (dépistage actif par RDT) et les autres variables recueillies ont été estimées à l'aide des rapports de cotes (RC) assortis de leur

intervalle de confiance à 95 % (IC à 95 %), en utilisant des modèles d'équations d'estimations généralisées (generalized estimation equation [GEE]) (83). Les groupes ont été comparés à l'aide du test de Wald. Ce modèle a été utilisé pour tenir compte de la non-indépendance des mesures répétées chez les participants. Ainsi, en ce qui concerne le dépistage actif (test positif ou non), les régressions ont été conduites avec une fonction de lien logit, une famille binomiale d'ordre 1 et une matrice de corrélation de type échangeable considérant que les corrélations provenant des mêmes individus entre différents passages seront assumées comme étant identiques. Ensuite, afin de contrôler les facteurs de risque potentiellement confondants, des modèles GEE multi variés ont été construits sur la base des résultats des modèles bi variables avec un seuil d'inclusion des variables associées au dépistage actif avec une valeur p inférieure à 0,25.

Dépistage passif : Le même raisonnement a été appliqué au dépistage passif. Dans ce cas, des modèles de Poisson(84) ont été utilisés afin de générer des ratios d'incidence en fonction des durées d'exposition. De même les ratios d'incidence étaient assortis de leur intervalle de confiance à 95 % (IC à 95 %). Des analyses bi variables et multi variables ont été conduites selon la même procédure.

Le logiciel STATA version 10.1 a été utilisé pour les analyses statistiques (Stata Corp., Collège Station, Texas, US). Compte tenu de la nature de l'enquête de type exhaustif, aucune pondération à posteriori (permettant de redresser la distribution de la population) n'était indiquée.

Comité d'éthique

Le protocole a été soumis à l'approbation du Comité National d'Ethique (Ministère de la Santé et du Planning Familial) et qui a été accordée en avril 2010 (Autorisation N° 19 CE/MinSan/09 avril 2010).

Résultats

Caractéristiques de la cohorte

Dans les 7 villages de la commune d'Ampasimanjeva, 1932 enfants de moins de 5 ans ont été recensés et suivis du octobre 2009 au 28 février 2011.

Nous avons observé une homogénéité du nombre d'enfants recensés par village en termes de classe d'âge, avec une prépondérance du sexe féminin. Seul 1% des enfants âgés de moins de 5 ans présentaient un trait drépanocytaire homozygote.

Il est à noter que les classes d'âge mentionnées correspondaient à l'âge au moment de l'inclusion, et les enfants ont été suivis pendant 2 ans.

Prévalence parasitaire du paludisme dans la commune d'Ampasimanjeva

Pendant l'étude, 5 Dépistages Actifs ont été réalisés, en octobre 2009, février 2010, juin 2010, octobre 2010, et février 2011. Un total de 7568 prélèvements a été collecté sur 1932 enfants (tableau 1).

La prévalence parasitaire moyenne du paludisme dans la commune d'Ampasimanjeva, une zone endémique à forte transmission, était de 8,93% (IC95% 8,29 - 9,59). La prévalence parasitaire la plus élevée a été retrouvée en février 2010, et atteignait 16,83% (IC 95% : 14,77 – 19,04) (tableau 2)

Tableau 1. Caractéristiques des enfants recensés dans la commune d'Ampasimanjeva, Octobre 2009 - février 2011.

Villages	n=1932	Frequence	Pourcentage	
Ambohimandroso		253	13,10	
Ampasimanjeva		433	22,41	
Andramora		286	14,80	
Ankazondrano		183	9,47	p<0,05
Antaimby		139	7,19	
Antsarandrano		307	15,89	
Tanambao		331	17,13	
Sexe				
feminin	n=1932	1120	57,97	p<0,001
masculin		812	42,03	
classe age(mois)				
	n=1932	Frequence	Pourcentage	
[2-11]		302	15,63	
[12-23]		373	19,31	
[24-35]		445	23,03	NS
[36-47]		376	19,46	
[48-59]		436	22,57	
n=1399	mediane	moyenne	± SD	
ages (mois)	34	31,91	16,80	
taille (cm)	87	85,90	12,90	
poids (kg)	11,5	11,60	2,60	
Hemoglobinopathie (n=1460)				
	frequence	pourcentage		
aa	1111	76,1		
ss	15	1,03		p<0,05
as	334	22,87		
TauxHémoglobine g/l (n=403)				
	median	moyenne	± SD	
	10,9	11,40	2,73	

Tableau 2. Prévalence parasitaire du Paludisme dans la commune d'Ampasimanjeva, octobre 2009-février 2011.

villages	Observation	RDT [+]	Prevalence (%)	(IC 95%)
Ambohimandroso	1027	105	10,22	[8,43 -12,24]
Ampasimanjeva	1549	100	6,46	[5,28 -7,79]
Andramora	1060	90	8,49	[6,89 -10,33]
Ankazondrano	777	92	11,84	[9,65 -14,32]
Antaimby	519	43	8,29	[6,06 -10,99]
Antsarandrano	1230	135	10,98	[9,28 - 12,9]
Tanambao	1406	111	7,89	[6,5 -9,42]
Prevalence totale	7568	676	8,93	[8,29 - 9,59]
Periode				
oct-09	1689	152	9,00	[7,68 -10,47]
févr-10	1224	206	16,83	[14,77 - 19,04]
juin-10	1581	112	7,08	[5,86 - 8,46]
oct-10	1500	69	4,60	[3,59 - 5,78]
févr-11	1574	137	8,70	[7,35 - 10,20]
Prevalence totale	7568	676	8,93	[8,29 - 9,59]
Classe d'age (mois)				
[2-11]	1197	97	8,10	[6,62 -09,79]
[12-23]	1428	121	8,47	[7,08 -10,03]
[24-35]	1730	164	9,48	[8,14-10,9]
[36-47]	1483	135	9,10	[7,68 - 10,68]
[48-59]	1730	159	9,19	[7,87 - 10,65]
Prevalence totale	7568	676	8,93	[8,29 - 9,59]
Sexe				
Feminin	4396	394	8,96	[8,13 - 9,84]
Masculin	3172	282	8,89	[7,92 -9,93]
Prevalence totale	7568	676	8,93	[8,29 - 9,59]
Type Hb				
aa	5697	390	6,85	[6,20 -7,53]
as	5697	116	2,04	[1,68 - 2,43]
ss	5697	8	0,14	[0,060 - 2,76]
Temperature \geq 37°5	7568	285	3,77	[3,34 - 4,95]

Etudes des niveaux de risque

Analyses bi-variées

En prenant comme niveau de référence la village d'Ampasimanjeva, le dépistage actif en octobre 2009, l'intervalle de 2 à 12 mois pour la classe d'âge, nous avons obtenu le tableau 3.

Dans l'ensemble, les prévalences parasitaires varient en fonction des villages et des mois. Si on considère chaque variable en fonction des villages, ceux de Tanambao, Ambohimandroso, Ankazondrano étaient plus exposés au paludisme qu'Ampasimanjeva. En fonction de la période, les enfants avaient plus de risque d'être infectés pendant le mois de février 2010, et moins de risque au mois d'octobre 2010.

En prenant en compte le village et les passages (mois), par modèles d'équations d'estimations généralisées (GEE), binominal, nous avons réalisé l'analyse multi variée représentée dans le tableau 4.

L'analyse multi variée confirme la variation des prévalences parasitaires avec l'âge, le mois des DA, et la température.

En contrôlant les facteurs de confusion entre les villages, les mois de passage, et la température, nous observons que les enfants d'Antsarandrano ont plus de risque d'être porteurs de *Plasmodium* par rapport à Ampasimanjeva. Au mois d'octobre 2010, le risque de contracter le paludisme était moins élevé qu'au mois d'octobre 2009.

Tableau 3. Les facteurs de risque associés au portage de plasmodium.

Facteurs de risque	Odds Ratio	IC95%		P>z
villages	1,076	1,032	1,121	0,001*
Ampasimanjeva	reference			
Ambohimandroso	1,644	1,216	2,223	0,001*
Tanambao	1,234	0,917	1,659	0,165
Antaimby	1,298	0,877	1,921	0,193
Antsarandrano	1,777	1,337	2,363	0*
Andramora	1,336	0,978	1,825	0,069
Ankazondrano	1,940	1,417	2,656	0*
passage	0,877	0,830	0,925	0*
oct-09	reference			
févr-10	2,060	1,653	2,568	0*
juin-10	0,776	0,360	0,995	0,046*
oct-10	0,492	0,369	0,657	0*
févr-11	0,972	0,767	1,232	0,815
clage (mois)	1,034	0,973	1,099	0,278
[2-11]	reference			
[12-23]	1,054	0,784	1,418	0,727
[24-35]	1,188	0,899	1,572	0,226
[36-47]	1,142	0,855	1,527	0,369
[48-59]	1,155	0,872	1,530	0,314
Sexe				
masculin	0,990	0,835	1,174	0,911
feminin	1,010	0,852	1,197	0,911
Hémoglobinopathie				
aa	0,979	0,777	1,234	0,857
as	0,991	0,782	1,256	0,941
ss	1,545	0,682	3,503	0,297
temp \geq 37°5	82,919	61,611	111,596	0*

* Significatif

Tableau 4. Modèle du risque d'infection parasitaire

	Odds Ratio	IC95%	P>z
Fokontany			
Ampasimanjeva	reference		
Ambohimandroso	1,24	0,86 1,79	0,252
Tanambao	1,23	0,87 1,74	0,231
Antaimby	1,56	1,01 2,43	0,047*
Antsarandrano	2,03	1,46 2,81	0*
Andramora	1,65	1,16 2,34	0,005*
Ankazondrano	1,30	0,88 1,92	0,187
passage			
oct-09	reference		
févr-10	0,73	0,53 1,00	0,051
juin-10	0,93	0,71 1,24	0,632
oct-10	0,49	0,35 0,69	0*
févr-11	0,98	0,75 1,30	0,909
temp	94,38	67,83 131,32	0*

* Significatif

L'incidence du paludisme dans la commune d'Ampasimanjeva

Calcul du taux d'incidence : le taux d'incidence de la parasitémie et des fièvres a été calculé à partir des DP. L'intervalle de confiance de la densité d'incidence a été calculé par la loi binomiale. (Tableau 5).

Tableau 5. Incidence du Paludisme dans la commune d'Ampasimanjeva chez les enfants âgés de moins de 5 ans.

	Nombre des fièvres	jours de suivis/ mois	TDR (+)	Taux d'Incidence (personne /mois) paludisme	IC 95%	
villages						
Ampasimanjeva	632	2022,40	44	0,022	0,016	0,029
Ambohimandroso	332	1062,40	24	0,023	0,014	0,034
Tanambao	432	1382,40	41	0,030	0,021	0,040
Antaimby	220	704,00	20	0,028	0,017	0,044
Antsarandrano	504	1612,80	45	0,028	0,020	0,037
Andramora	424	1356,80	35	0,026	0,018	0,036
Ankazondrano	188	601,60	9	0,015	0,007	0,028
Incidence totale	2732	8742,40	218	0,025	0,022	0,028
periode						
01fév au 30 avril 2010	683	2003,47	80	0,040	0,032	0,050
01 mai au 30 juillet 2010	683	1957,93	44	0,022	0,016	0,030
01 aout au 31 octobre 2010	683	2071,77	28	0,014	0,009	0,020
01 nov au 28 févr 2011	683	2709,23	66	0,024	0,019	0,031
Incidence totale	2732	8742,40	218	0,025	0,022	0,028
Cl_age (mois)						
[2-11]	25	72,93	3	0,041	0,01	0,12
[12-23]	149	468,47	8	0,017	0,01	0,03
[24-35]	178	562,97	41	0,073	0,05	0,10
[36-47]	203	661,93	54	0,082	0,06	0,11
[48-59]	186	596,77	47	0,079	0,06	0,10
[60-71]	173	575,10	62	0,108	0,08	0,14
[72-84]	25	99,17	3	0,030	0,01	0,09
		3037,33	218	0,072	0,06	0,08
Sexe						
Masculin	1124	3596,80	103	0,029	0,023	0,035
Féminin	1608	5154,60	115	0,022	0,018	0,027
	2732	8742,40	218	0,025	0,022	0,028
Type Hb						
aa		2223,20	163	0,073	0,062	0,085
ss		37,40	1	0,027	0,001	0,149
as		776,73	54	0,070	0,052	0,091
Total		3037,33	218	0,072	0,063	0,082

Le taux d'incidence annuel du paludisme au niveau communautaire dans la commune d'Ampasimanjeva était de 2,5 cas/100 personnes_mois, alors que le taux d'incidence annuelle des fièvres est de 31,25 cas/100 (IC95% poisson exact) : [30- 33]) personnes_mois, soit 12,5 fois plus élevé, soit le paludisme représente 8% des fièvres.

A chaque passage, il n'y avait pas de grande différence du taux d'incidence, à l'exception de la classe d'âge de [60- 71] mois à la fin de l'étude, où le taux d'incidence atteignait 10,9% (IC 95% binomial exact : 0,083 – 0,140).

Calcul de Taux de densité d'incidence (IRR) : Les analyses univariées et multivariées ont été obtenues à partir du modèle GEE en utilisant la loi de poisson.

Tableau 6. Taux de densité d'Incidence d'être porteur de parasite.

TDR (+)	IRR	IC95%		P>z
villages				
Ampasimanjeva	reference			
Aambohimandroso	1,038	0,640	1,685	0,879
Tanambao	1,363	0,901	2,062	0,142
Taimby	1,306	0,781	2,184	0,309
Antsarandrano	1,282	0,856	1,922	0,228
Andramora	1,186	0,770	1,826	0,44
Ankazondrano	0,688	0,342	1,382	0,293
<i>IRR totale</i>	1,008	0,944	1,076	0,813
periode				
01fév au 30 avril 2010	reference			
01mai10-31 juillet2010	0,550	0,380	0,796	0,002*
01 aout au 31 oct2010	0,350	0,227	0,539	0*
01nov-28fév2011	0,825	0,595	1,145	0,25
<i>IRR totale</i>	0,899	0,797	1,013	0,081
Classe(âge en mois)				
[2-11]	reference			
[12-23]	0,446	0,120	1,661	0,229
[24-35]	1,890	0,590	6,060	0,284
[36-47]	2,172	0,684	6,896	0,188
[48-59]	2,067	0,648	6,593	0,220
[60-71]	2,948	0,932	9,321	0,066
[72-84]	0,954	0,191	4,756	0,954
<i>IRR total</i>	1,235	1,126	1,355	0*

IRR : Incidence Rate Ratio

* Significatif

Concernant le DP, l'âge de l'enfant augmente en fonction du temps ; c'est pourquoi les deux classes d'âge [60- 71] et [72 -84] apparaissent progressivement et les classes d'âge [2- 11] disparaissent. Dans leur totalité, les classes d'âge et les périodes de suivi ont influencé l'IRR du paludisme.

Par rapport aux différents facteurs, il y avait moins de risque de contracter un paludisme entre le mois de mai 2010 et le mois d'octobre 2010 par rapport au mois de février et avril 2010. D'autre part, L'IRR des enfants de [60-71] mois était plus élevé par rapport aux enfants de [2-12] mois.

Analyse multivariée

Tableau 7. Prédiction du taux d'incidence.

	IRR	IC95%	P>z
periode			
01mai10-31 juillet2010	0,910	0,631 1,314	0,616
01 aout au 31 oct2010	0,906	0,588 1,396	0,655
01nov-28fév2011	0,936	0,670 1,307	0,698
clage_anée_			
2	0,459	0,123 1,719	0,248
3	1,943	0,603 6,262	0,266
4	2,243	0,701 7,181	0,174
5	2,124	0,662 6,812	0,205
6	3,062	0,957 9,793	0,059
7	0,999	0,194 5,138	0,999

Si on élimine les facteurs de confusion entre la classe d'âge et la période, seule la classe d'âge [60-71] avait plus de risque de développer un paludisme que les enfants de [6-12] mois.

La mortalité palustre à Ampasimanjeva

La mortalité brute des enfants de moins de 5 ans à Ampasimanjeva a été de 8 pour 1000 pendant l'étude (15/1932). Le taux de létalité était de (8/1000) 2/15.

Dépistage passif au niveau du Centre de Santé

Sur les 862 patients référés au Centre de Santé par les Agents Communautaires, 12 ne se sont pas présentés. D'autre part, 181 patients ont consulté directement le centre de santé, soit un total de 961 consultations. Parmi les consultants, 318/961 (33,19%) avaient pris des médicaments en automédication, 90 ont pris des antipaludiques : 37/ 90 avaient pris de la chloroquine, et 15/90 avaient pris des ACTs, et les autres des antibiotiques ou des antipyrétiques. Un diagnostic clinique du paludisme a été déclaré par le médecin traitant pour 16 patients, mais seulement 09/16 (56,25%) ont été positifs (échappés sur le diagnostic au niveau communautaire). Parmi les autres causes de consultation (961), 561 étaient dues à des infections respiratoires basses et 45 à des gastro entérites. Le reste est dû à d'autres causes.

Après les analyses de quelques prélèvements des autres causes de fièvres, les diarrhées d'origines bactériennes ont été diagnostiquées chez 26 patients, et 14 étaient d'origine virale ; parmi les infections respiratoires, 188 étaient d'origine virale, et 220 d'origine bactérienne.

Discussion

Dépistage Actif

Les 5 passages des Dépistages Actifs ont été choisis en fonction des saisons: octobre 2009 ; février 2010, juin 2010, octobre 2010, et février 2011. Ce choix a été basé sur le modèle mathématique de *Sandip Mandal*, 2011, montrant une relation de la prévalence avec l'environnement (densité vectorielle, température, prémuniton) (85, 86).

La prévalence parasitaire de la commune d'Ampasimanjeva, une zone endémique, était de 8,59% (IC 95%, binomial exact : 8 ,29 – 9 ,09), elle ne diffère pas des résultats obtenus sur une étude longitudinale de 10 années 1995-2005 à Moramanga Madagascar, qui était de 9,2% (cohorte dans un village des marges des Hautes Terres). Mais au niveau du Centre de Santé, l'analyse des données au niveau des statistiques sanitaires de Madagascar montre une prévalence de 7,3% (80) .

Les prévalences inter-villages ne diffèrent pas, entre 7,89 (IC95%, binomial exact : 6,5 – 9,42) et 10,98 (IC95%, binomial exact : 9,28 – 12,9), mais par contre, les prévalences varient avec les saisons. Dans notre étude, la plus élevée était de 16,83 % (IC 95%, binomial exact : 14,77 – 19,04), au mois de février 2010. Une année après, cette prévalence était de 8,83% (IC 95% binomial exact : 7,35 – 10,20). Cette variation pouvait être due à la variation saisonnière (cyclone en 2010) ou à l'effet des stratégies de lutte (distribution des MID en octobre 2009, coupure des transmissions par l'utilisation des ACTs.). En juin 2011, un Dépistage Actif a été conduit auprès de 3 écoles se situant dans les mêmes faciès. Respectivement, les prévalences parasitaires étaient de 5,8% (n=138) ; 45 ,5 % (n=180) ; 28,3% (n=318)(87). Les prévalences étaient différentes d'une école à une autre et de celle de notre étude au même mois : 7,08% (IC binomial exact : 95% : 5,86 – 8,46). La prévalence observée est très faible par rapport aux autres études menées en Afrique en 2009 : Tanzanie (42%), Uganda (61%), Nigeria (71%) et Ghana (71%)(88).

Les prévalences parasitaires ne diffèrent pas avec les variations d'âges dans notre étude.

Prédiction de risques d'être porteur de parasites dans la commune d'Ampasimanjeva

Pour l'analyse bivariée, nous avons défini le village d'Ampasimanjeva comme niveau de référence pour les raisons suivantes: c'est le chef-lieu de commune, le plus près du centre de santé et ayant les ACs les plus actifs.

Nous avons observé que Les enfants des villages plus éloignés du Centre de Santé (Ambohimandroso, d'Antsarandrano et Ankarondrano) ont plus de risques d'être porteurs des parasites, favorisés par les écologies des villages, avec des gîtes favorables au développement des moustiques.

Le mois d'octobre est la période où le risque du paludisme est faible compte tenu de l'absence de pluies. Par contre, au mois de février, le climat est humide, et donc favorable au développement de l'Anophèle, entraînant ainsi l'augmentation de risque d'infection à cette période. Ces données sont corrélées avec les données sur la prévalence parasitaire.

Comme dans toutes les zones endémiques du paludisme et selon les résultats observés dans notre étude, les enfants hyperthermiques ont plus de risques d'être porteurs du paludisme.

Concernant les analyses multivariées, en considérant les facteurs de confusions entre les périodes, les villages et la température, la population des villages les plus éloignés présentent toujours le plus de risque d'être porteurs de parasites. Par contre, à Antaimby, un village très proche d'Ampasimanjeva et très riche en rizières, nous avons trouvé que la population était plus à risque d'être porteur de parasites.

L'âge, le sexe, le type d'hémoglobine n'avaient aucune influence sur le portage de *Plasmodium*.

Dépistage Passif

Le taux d'incidence des fièvres pendant 2007-2009 et 2010-2011 dans la commune d'Ampasimanjeva était les mêmes : respectivement, 31 cas/100 personne_ mois et 30 cas sur 100 personnes par mois. L'incidence du paludisme était en moyenne de 2,5 cas /100, avec des variations importantes en fonction de la saison des pluies et de la saison sèche, la période de transmission la plus intense allant de début février à fin avril (89).

D'autre part, nous avons constaté que, parmi les enfants ayant 5-6 ans au moment du recensement, et ayant atteint l'âge de 6-7ans en fin d'étude étaient plus à risque de développer un accès palustre.

Ces résultats nous permettent de préciser les modalités liées au contrôle du paludisme dans la commune :

- 1) Compte tenu de l'importance des étiologies des fièvres non associées à un paludisme, il apparaît très important de se pencher sur le développement d'une stratégie « horizontale » apportant les moyens diagnostiques et thérapeutiques des fièvres sur la base d'un algorithme décisionnel simplifié.
- 2) Compte tenu de la limite d'âge imposée par la Moustiquaire Imprégnée d'insecticide, les interventions permettent de protéger les enfants de moins de 5 ans contre le risque de développer un paludisme sévère. Par contre, nos résultats semblent indiquer qu'ils acquièrent un retard dans l'acquisition d'une immunité protectrice, entraînant une recrudescence des cas de fièvres lorsque les enfants ont plus de 5 ans et ne rentrent plus dans le cadre du programme de lutte.

Conclusion

Notre étude nous a permis de collecter et d'analyser des données de base sur la prévalence parasitaire associée à la morbidité palustre dans une zone endémique limitée à la commune d'Ampasimanjeva. Nous avons pu noter une réduction effective de la prévalence du paludisme suite aux mesures de prévention et de traitement prises au niveau communautaire.

Le paludisme est correctement pris en charge au niveau des centres de santé de base, mais, suite à des plaintes formulées par le personnel de ces centres, la charge de travail est devenue trop lourde pour un agent de santé par centre, et il devient urgent de redéfinir les ressources humaines redistribuant les tâches médicales et administratives permettant d'optimiser le travail qu'ils réalisent de manière admirable et dévouée. Il serait par exemple souhaitable qu'un soutien soit apporté par des médecins itinérants (comme j'ai tenté de le faire ces dernières années dans le cadre du projet de recherche) pouvant assurer une formation continue aux agents de santé au-delà de la prise en charge du paludisme. Notre observation sur les causes de fièvre chez les enfants soutient la nécessité d'un effort dans cette direction.

Nous avons également mis en évidence une variation importante de la prévalence du paludisme inter-villages dans une même commune de quelques kilomètres carrés, suggérant des interventions ciblées en fonction des risques liés à la situation géographique, agricole, et climatique. Une étude plus approfondie avec un échantillonnage plus représentatif sera nécessaire, mais l'étude effectuée nous a permis d'avoir une première

approche de la méthodologie à étendre pour collecter les données de prévalence et d'incidence dans les autres communes, et préciser ainsi les besoins ciblés en TDR et ACTs à Madagascar.

Remerciements

Nettoyages, analyses de données et lectures :

Pr Christophe Rogier (IPM), Dr Daouda Sissoko (Bordeaux), Patrick Razafindrakolona (INSTAT), Thierry Franchard (Faculté de Médecine Antananarivo).

Participations et Financements :

Reggio Terzzo Mondo (RTM) , FMA (Fondation Médicale d'Ampasimanjeva), Programme National de Lutte Contre le Paludisme ,

Service de Santé de District Manakara, Centre d'Infectiologie Charles Mérieux, villageois d' Ampasimanjeva, Fondation Mérieux.

Institut National de la Statistique sanitaire, Direction générale de la Santé Publique, Communauté des sœurs Ampasimanjeva, Faculté de Médecine Antananarivo.

4. CONCLUSIONS

La prise en charge intégrée des syndromes fébriles au niveau communautaire en zone rurale reste l'une des stratégies prioritaires du Programme de Lutte contre le Paludisme à Madagascar. L'objectif final de cette stratégie est d'effectuer un diagnostic précis et fiable et d'administrer un traitement rapide et efficace du paludisme dans les 24h suivant le début de l'accès fébrile.

Cette stratégie n'est pas nouvelle car depuis plusieurs années, les agents communautaires ont l'habitude de travailler en étroite collaboration avec le personnel de santé du secteur public. Depuis 2005, ils ont en charge de traiter les cas de paludisme présumés (basé uniquement sur la fièvre) par la chloroquine. Cependant, à ce jour, aucune étude n'a été réalisée pour évaluer l'efficacité et la faisabilité de ces actions. De plus, malgré le changement politique en matière de traitement (abandon de la chloroquine au profit de la combinaison artésunate plus amodiaquine dans la prise en charge du paludisme simple) intervenu concrètement en 2006-2007, beaucoup d'acteurs comme les ONGs locales, participant à la lutte contre le paludisme à Madagascar et jouant un rôle important dans la sensibilisation des agents communautaires, ont continués à promouvoir l'utilisation de la chloroquine alors que les ACT étaient distribués même dans les régions les plus reculées.

Notre projet de recherche opérationnelle basée sur l'utilisation des ACTs et sur la mise en place des TDR à partir du système de santé existant, nous a permis d'obtenir des informations cruciales concernant la mise en place de la nouvelle politique nationale au niveau communautaire. Notre travail a permis, entre autre, de vérifier l'efficacité de la prise en charge des fièvre au niveau communautaire par la combinaison fixe artésunate plus amodiaquine, d'évaluer l'intérêt de l'utilisation des TDR par les agents communautaires dans le diagnostic du paludisme et mesurer des indicateurs épidémiologiques qualitatifs et quantitatifs clés concernant la morbidité et la mortalité au niveau communautaire. Ces données ont également permis d'apprécier le rôle des agents communautaires et la pertinence de leur participation dans la prise en charge des fièvres.

Concernant l'efficacité thérapeutique de la combinaison artesunate plus amodiaquine dans la prise en charge des fièvres chez les enfants de moins de cinq ans.

Les données obtenues lors de notre étude, nous permettent d'affirmer l'excellente efficacité thérapeutique du traitement administré sur décision de l'agent communautaire et sous la

PRISE EN CHARGE DU PALUDISME AU NIVEAU COMMUNAUTAIRE CHEZ LES ENFANTS DE MOINS DE 5 ANS

Evaluation de la mise en œuvre de la nouvelle politique nationale

Arsène RATSIMBASOA - THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ BORDEAUX SEGALEN

8 Novembre 2011

supervision des parents ou gardiens des enfants. Nous avons observé que le taux de guérison clinique global était de 98,4% au bout de 28 jours et 97,9% au bout de 42 jours. La compliance au traitement a été estimée à 83,4%. Aucun effet indésirable grave n'a été observé. :

Concernant l'intérêt de l'utilisation des tests de diagnostic rapide au niveau communautaire

Cette étude a permis de déterminer de confirmer les performances diagnostiques des agents de santé communautaire utilisant les TDR en termes de sensibilité, spécificité, VPP et VPN étaient supérieures à 85%, que la concordance entre les résultats de la microscopie et des TDRs, estimée par la valeur Kappa était excellente (83%) et que les TDR étaient stable même conservés au niveau communautaire. L'introduction d'outils diagnostiques performants et facile d'emploi comme les TDR au niveau communautaire semble être une stratégie efficace pour améliorer la prise en charge des malades fébriles, pour réduire la surconsommation d'antipaludiques (et donc le coût des traitements inutilement utilisés) et pour réduire la pression de sélection exercée par cette surconsommation.

Concernant la situation épidémiologie du paludisme au niveau communautaire et l'évaluation de l'impact des stratégies de lutte actuellement mises en œuvre.

Notre étude nous a permis de collecter et d'analyser des données de base sur la prévalence parasitaire associée à la morbidité palustre dans une zone endémique limitée à la commune d'Ampasimanjeva. Nous avons pu démontré que les mesures de prévention et de traitement prises au niveau communautaire étaient efficaces par la mesure objective de réduction de la prévalence du paludisme. Nous avons également mis en évidence une variation importante de la prévalence du paludisme inter-villages dans une même commune de quelques kilomètres carrés, suggérant des interventions ciblées en fonction des risques liés à la situation géographique, agricole, et climatique. Ce travail a permis de proposer une première approche méthodologique qu'il serait souhaitable d'étendre pour collecter les données de prévalence et d'incidence dans les autres communes, et préciser ainsi les besoins ciblés en TDR et ACTs à Madagascar.

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Didier Ménard, Vincent Thonier, Arsène Ratsimbaoa, Herilala Andrianantenaina, Jean-François Carod, Olivier Domarle. 1er Colloque de l'Océan Indien sur la drépanocytose « Prise en charge de la drépanocytose dans l'Océan Indien ».
2. MinSan, IPM. Etude sur la chloroquino resistance Sainte Marie. 2004.
3. Snow RW, Peshu N, Forster D, Mwenesi H, Marsh K. The role of shops in the treatment and prevention of childhood malaria on the coast of Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1992 May-Jun;86(3):237-9.
4. Mwenesi HA, Harpham T, Marsh K, Snow RW. Perceptions of symptoms of severe childhood malaria among Mijikenda and Luo residents of coastal Kenya. *J Biosoc Sci.* 1995 Apr;27(2):235-44.
5. Andriantsoanirina V, Ratsimbaoa A, Bouchier C, Jahevitra M, Rabearimanana S, Radrianjafy R, et al. Plasmodium falciparum drug resistance in Madagascar: facing the spread of unusual pfdhfr and pfmdr-1 haplotypes and the decrease of dihydroartemisinin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Nov;53(11):4588-97.
6. Ratsimbaoa A, Randrianarivojosia M, Millet P, Soares JL, Rabarijaona L, Rakotoson B, et al. Use of pre-packaged chloroquine for the home management of presumed malaria in Malagasy children. *Malar J.* 2006;5:79.
7. Ministère de la Santé et du Planning Familial Malagasy. Note technique sur l'utilisation des blisters antipaludiques « Ody Tazomoka ». Direction de lutte contre le paludisme et les grandes endémies 2005;Numéro 184.
8. Randrianarivojosia M, Fidock DA, Belmonte O, Valderramos SG, Mercereau-Puijalon O, Ariey F. First evidence of pfcr1 mutant Plasmodium falciparum in Madagascar. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006 Sep;100(9):826-30.
9. Catalogue of life. consultez juillet 2010.
10. Freitas-Junior LH, Bottius E, Pirrit LA, Deitsch KW, Scheidig C, Guinet F, et al. Frequent ectopic recombination of virulence factor genes in telomeric chromosome clusters of P. falciparum. *Nature.* 2000 Oct 26;407(6807):1018-22.
11. Mendis K, Sina BJ, Marchesini P, Carter R. The neglected burden of Plasmodium vivax malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 2001 Jan-Feb;64(1-2 Suppl):97-106.
12. Escalante AA, Ayala FJ. Phylogeny of the malarial genus Plasmodium, derived from rRNA gene sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Nov 22;91(24):11373-7.
13. Garnham PCC. Malaria parasites and other haemosporidia. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1996.
14. Curtis RB. A History of Mosquitoes in Massachusetts. Northeast Mosquito Control Association <http://www.nmca.org/Nmca93-4htm> Retrieved 2008-03-31 http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1902/ross-biohtml Retrieved 2007-06-15.

15. Golgi C. Sulle febbri malariche estivo-autumnali di Roma. *Gass Med di Pavia*. 1893;2:481–93, 505–20, 29–44, 53–59.
16. Grassi B, Feletti R. Parasites malariques chez les oiseaux. *Arch Ital Biol* 13:297-300.
17. Lorber CG, Lorber CP, Schneider J. Die Medizinerfamilie Meckel aus Wetzlar. *Hess Aerzteblatt*. 2005;2:95–9.
18. Pel PK. Mededeelingen uit de Geneeskundige kliniek. Malaria infectie. *Ned Tijdschr Geneesk* 22. 1886;22:341–58.
19. Sutter PS. Nature's agents or agents of empire? Entomological workers and environmental change during the construction of the Panama Canal. *Isis*. 2007 Dec;98(4):724-54.
20. WHO. World malaria report 2010.
21. Greenwood BM, Bojang K, Whitty CJ, Targett GA. Malaria. *Lancet*. 2005 Apr 23-29;365(9469):1487-98.
22. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infect Dis*. 2004 Jun;4(6):327-36.
23. Keiser J, Utzinger J, Caldas de Castro M, Smith TA, Tanner M, Singer BH. Urbanization in sub-saharan Africa and implication for malaria control. *Am J Trop Med Hyg*. 2004 Aug;71(2 Suppl):118-27.
24. Roll Back Malaria. Plan d'action mondial contre le Paludisme. 2008.
25. Free Distribution or Cost-Sharing: Evidence from a Malaria Prevention Experiment in Kenya. *Innovations for Poverty Action (IPA)* <http://poverty-action.org/project/bednets>. Retrieved 2010-02-18.
26. Hull K. Malaria: Fever Wars. PBS. 2006.
27. WHO. Roll Back Malaria department: Scaling up Home-based Management of Malaria. 2004.
28. WHO. Informal consultation on malaria elimination: setting up the WHO agenda Technical Consultation Report. World Health Organization, Geneva.; 2006.
29. Helitzer-Allen DL, McFarland DA, Wirima JJ, Macheso AP. Malaria chemoprophylaxis compliance in pregnant women: a cost-effectiveness analysis of alternative interventions. *Soc Sci Med*. 1993 Feb;36(4):403-7.
30. Otten M, Aregawi M, Were W, Karema C, Medin A, Bekele W, et al. Initial evidence of reduction of malaria cases and deaths in Rwanda and Ethiopia due to rapid scale-up of malaria prevention and treatment. *Malar J*. 2009;8:14.
31. Institut National de la Statistique Madagascar. Etude Socio –Démographique de Madagascar. EDSM III. 2003-2004.

32. Madagascar. Plan stratégique National de Lutte Contre le Paludisme. 2005-2015.
33. Jean Mouchet. AIPM. 1993;60.
34. Hôtel Panorama, Antananarivo, Madagascar. 27 – 29 Novembre 2008.
35. Ratsimbaoa Arsène, Rakotoarivony Clemence, Andrianasolo Rodys, Ravony Harintsoa, Alyssa Finlay, Rabarijaona Henintsoa, et al. Malaria Program Review. 2011.
36. Andriantsoanirina V, Menard D, Tuseo L, Ratsimbaoa A, Durand R. [Resistance of Plasmodium falciparum to antimalarial drugs: impact on malaria pre-elimination in Madagascar]. Med Trop (Mars). Jun;71(3):298-304.
37. WHO. World Malaria Report. 2008. 2009 [cited; Available from: Available: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241563697/en/index.html> Accessed 2011, May 13th.
38. Font F, Alonso Gonzalez M, Nathan R, Kimario J, Lwilla F, Ascaso C, et al. Diagnostic accuracy and case management of clinical malaria in the primary health services of a rural area in south-eastern Tanzania. Trop Med Int Health. 2001 Jun;6(6):423-8.
39. Othnigue N, Wyss K, Tanner M, Genton B. Urban malaria in the Sahel: prevalence and seasonality of presumptive malaria and parasitaemia at primary care level in Chad. Trop Med Int Health. 2006 Feb;11(2):204-10.
40. Jelinek T, Grobusch MP, Nothdurft HD. Use of dipstick tests for the rapid diagnosis of malaria in nonimmune travelers. J Travel Med. 2000 Jul-Aug;7(4):175-9.
41. Tavrow P, Shabahang J, Makama S. Vendor-to-vendor education to improve malaria treatment by private drug outlets in Bungoma District, Kenya. Malar J. 2003 May 7;2:10.
42. Whitty CJM, Armstrong M, Behrens RH. Self-testing for falciparum malaria with antigen-capture cards by travelers with symptoms of malaria. Am J Trop Med Hyg. 2000 Nov-Dec;63(5-6):295-7.
43. WHO. Management of Uncomplicated Malaria and the Use of Antimalarial Drugs for the Protection of Travellers: Report of an Informal Consultation. World Health Organization: Geneva. 1996.
44. WHO. Assessment and monitoring of antimalarial drug efficacy for the treatment of uncomplicated falciparum malaria. World Health Organization Geneva. 2003.
45. Rouse P, Mkulama MA, Thuma PE, Mharakurwa S. Distinction of Plasmodium falciparum recrudescence and re-infection by MSP2 genotyping: a caution about unstandardized classification criteria. Malar J. 2008;7:185.
46. Rakotonirina H, Barnadas C, Raherijafy R, Andrianantenaina H, Ratsimbaoa A, Randrianasolo L, et al. Accuracy and reliability of malaria diagnostic techniques for guiding febrile outpatient treatment in malaria-endemic countries. Am J Trop Med Hyg. 2008 Feb;78(2):217-21.
47. WHO. Methods manual for laboratory quality control testing of Malaria Rapid diagnostic tests. version 5. World Health Organization: Geneva. 2008.

48. Mariette N, Barnadas C, Bouchier C, Tichit M, Menard D. Country-wide assessment of the genetic polymorphism in *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* antigens detected with rapid diagnostic tests for malaria. *Malar J.* 2008;7:219.
49. Ratsimbao A, Randriamanantena A, Raheinjafy R, Rasoarilalao N, Menard D. Which malaria rapid test for Madagascar? Field and laboratory evaluation of three tests and expert microscopy of samples from suspected malaria patients in Madagascar. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Mar;76(3):481-5.
50. Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin Microbiol Rev.* 2002 Jan;15(1):66-78.
51. Steenkeste N, Incardona S, Chy S, Duval L, Ekala MT, Lim P, et al. Towards high-throughput molecular detection of *Plasmodium*: new approaches and molecular markers. *Malar J.* 2009;8:86.
52. Steenkeste N, Rogers WO, Okell L, Jeanne I, Incardona S, Duval L, et al. Sub-microscopic malaria cases and mixed malaria infection in a remote area of high malaria endemicity in Rattanakiri province, Cambodia: implication for malaria elimination. *Malar J.* 2011;9:108.
53. Barnadas C, Ratsimbao A, Ranaivosoa H, Ralaizandry D, Raveloariseheno D, Rabekotonorina V, et al. Short report: prevalence and chloroquine sensitivity of *Plasmodium malariae* in Madagascar. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Dec;77(6):1039-42.
54. Razakandrainibe R, Thonier V, Ratsimbao A, Rakotomalala E, Ravaoarisoa E, Raheinjafy R, et al. Epidemiological situation of malaria in Madagascar: baseline data for monitoring the impact of malaria control programmes using serological markers. *Acta Trop.* 2009 Aug;111(2):160-7.
55. Dicko A, Mantel C, Kouriba B, Sagara I, Thera MA, Doumbia S, et al. Season, fever prevalence and pyrogenic threshold for malaria disease definition in an endemic area of Mali. *Trop Med Int Health.* 2005 Jun;10(6):550-6.
56. Velema JP, Alihonou EM, Chippaux JP, van Boxel Y, Gbedji E, Adegbin R. Malaria morbidity and mortality in children under three years of age on the coast of Benin, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991 Jul-Aug;85(4):430-5.
57. Ishengoma DS, Francis F, Mmbando BP, Lusingu JP, Magistrado P, Alifrangis M, et al. Accuracy of malaria rapid diagnostic tests in community studies and their impact on treatment of malaria in an area with declining malaria burden in north-eastern Tanzania. *Malar J.* 2011;10:176.
58. McMorrow ML, Masanja MI, Abdulla SM, Kahigwa E, Kachur SP. Challenges in routine implementation and quality control of rapid diagnostic tests for malaria--Rufiji District, Tanzania. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Sep;79(3):385-90.
59. Seidahmed OM, Mohamedein MM, Elsir AA, Ali FT, Malik el FM, Ahmed ES. End-user errors in applying two malaria rapid diagnostic tests in a remote area of Sudan. *Trop Med Int Health.* 2008 Mar;13(3):406-9.
60. De Pina JJ, Garnotel E, Hance P, Vedy S, Rogier C, Morillon M. [Diagnosis of imported malaria in France]. *Med Mal Infect.* 2007 Nov;37(11):710-5.

61. Ratsimbao A, Fanazava L, Radrianjafy R, Ramilijaona J, Rafanomezantsoa H, Menard D. Evaluation of two new immunochromatographic assays for diagnosis of malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Nov;79(5):670-2.
62. Chanda P, Hamainza B, Moonga HB, Chalwe V, Pagnoni F. Community case management of malaria using ACT and RDT in two districts in Zambia: achieving high adherence to test results using community health workers. *Malar J.* 2011;10:158.
63. Elmardi KA, Malik EM, Abdelgadir T, Ali SH, Elsyed AH, Mudather MA, et al. Feasibility and acceptability of home-based management of malaria strategy adapted to Sudan's conditions using artemisinin-based combination therapy and rapid diagnostic test. *Malar J.* 2009;8:39.
64. Mubi M, Janson A, Warsame M, Martensson A, Kallander K, Petzold MG, et al. Malaria rapid testing by community health workers is effective and safe for targeting malaria treatment: randomised cross-over trial in Tanzania. *PLoS One.* 2011;6(7):e19753.
65. Uzochukwu BS, Obikeze EN, Onwujekwe OE, Onoka CA, Griffiths UK. Cost-effectiveness analysis of rapid diagnostic test, microscopy and syndromic approach in the diagnosis of malaria in Nigeria: implications for scaling-up deployment of ACT. *Malar J.* 2009;8:265.
66. Houze S, Boly MD, Le Bras J, Deloron P, Faucher JF. PfHRP2 and PfLDH antigen detection for monitoring the efficacy of artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated falciparum malaria. *Malar J.* 2009;8:211.
67. Kyabayinze DJ, Tibenderana JK, Odong GW, Rwakimari JB, Counihan H. Operational accuracy and comparative persistent antigenicity of HRP2 rapid diagnostic tests for *Plasmodium falciparum* malaria in a hyperendemic region of Uganda. *Malar J.* 2008;7:221.
68. Swarouth TD, Counihan H, Senga RK, van den Broek I. Paracheck-Pf accuracy and recently treated *Plasmodium falciparum* infections: is there a risk of over-diagnosis? *Malar J.* 2007;6:58.
69. Hopkins H, Bebell L, Kambale W, Dokomajilar C, Rosenthal PJ, Dorsey G. Rapid diagnostic tests for malaria at sites of varying transmission intensity in Uganda. *J Infect Dis.* 2008 Feb 15;197(4):510-8.
70. Willcox ML, Sanogo F, Graz B, Forster M, Dakouo F, Sidibe O, et al. Rapid diagnostic tests for the home-based management of malaria, in a high-transmission area. *Ann Trop Med Parasitol.* 2009 Jan;103(1):3-16.
71. Al-Taiar A, Jaffar S, Assabri A, Al-Habori M, Azazy A, Al-Gabri A, et al. Who develops severe malaria? Impact of access to healthcare, socio-economic and environmental factors on children in Yemen: a case-control study. *Trop Med Int Health.* 2008 Jun;13(6):762-70.
72. Yeboah-Antwi K, Pilingana P, Macleod WB, Semrau K, Siizeele K, Kalesha P, et al. Community case management of fever due to malaria and pneumonia in children under five in Zambia: a cluster randomized controlled trial. *PLoS Med.* 2011 Sep;7(9):e1000340.

73. Chanda P, Castillo-Riquelme M, Masiye F. Cost-effectiveness analysis of the available strategies for diagnosing malaria in outpatient clinics in Zambia. *Cost Eff Resour Alloc.* 2009;7:5.
74. Lubell Y, Reyburn H, Mbakilwa H, Mwangi R, Chonya S, Whitty CJ, et al. The impact of response to the results of diagnostic tests for malaria: cost-benefit analysis. *Bmj.* 2008 Jan 26;336(7637):202-5.
75. Ministère de la Santé et du Planning Familial. Plan stratégique de lutte contre le Paludisme à Madagascar 2007-2012. Accélérer les activités de contrôle du paludisme en vue de son élimination à Madagascar. Avril 2009.
76. Ministère de la Santé Publique Madagascar. Plan Stratégique de Lutte contre le Paludisme 2007-2010.
77. Ministère de la Santé Publique. Plan stratégique de Lutte Contre le Paludisme 2008-2012.
78. Ministère de la Santé Publique. Service de la Statistique Sanitaire. 2010.
79. Programme de Lutte Contre le Paludisme à Madagascar. Malaria Programm Revue; 2011.
80. Programme National de Lutte contre le Paludisme. Rapports annuels Service.; 2002,2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009.
81. Bell D, Go R, Miguel C, Walker J, Cacal L, Saul A. Diagnosis of malaria in a remote area of the Philippines: comparison of techniques and their acceptance by health workers and the community. *Bull World Health Organ.* 2001;79(10):933-41.
82. Arsène Ratsimbaoa HR, Jean de Dieu Marie Rakotomanga, Aimée Vonimpaisomihanta, Rogelin Raheinjavy, Martial Jehevitra, Rabenja Rapelanoro, Denis Malvy, Pascal Millet and Didier Ménard. Compliance, Safety and Effectiveness of Fixed – Dose Artesunate Amodiaquine for Presumptive Treatment of Non severe malaria in the control of Home Management of malaria in Madagascar. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene* (in press).
83. Nicholas Horton. Fitting generalized estimating equation (GEE) regression models in Stata. Dept of Epidemiology and Biostatistics Boston University School of Public Health. 2001.
84. Bouche G, Lepage B, Migeot V, Ingrand P. [Application of detecting and taking overdispersion into account in Poisson regression model]. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2009 Aug;57(4):285-96.
85. Mandal S, Sarkar RR, Sinha S. Mathematical models of malaria - a review. *Malar J.* 2011 Jul 21;10(1):202.
86. Lindsay SW, Parson L, Thomas CJ. Mapping the ranges and relative abundance of the two principal African malaria vectors, *Anopheles gambiae sensu stricto* and *An. arabiensis*, using climate data. *Proc Biol Sci.* 1998 May 22;265(1399):847-54.

87. Institut National de la Statistique Madagascar. Etude Socio –Démographique de Madagascar EDSMD IV. 2008-2009.
88. WHO. World Health Statistics. World Health Organisation Geneva.; 2010.
89. Guiguemde T.R., Toe A.C.R., Sadeler B.C., Gbary A.R., Ouedraogo. Etude de la variation de la densité parasitaire de Plasmodium falciparum chez des porteurs asymptomatiques dans la région de Bobo-Dioulasso. (Burkina-Faso). JB N°9251/88 Doc Tech OCCGE.