

douzaine d'autres (Gillet *et al.*, 1980). Dans un cas (exp. A), ce traitement fut appliqué de manière répétée 10, 8, 6 et 3 jours avant l'inoculation I.V. de 7 à 8 000 sporozoïtes ; dans l'autre cas (exp. B), la même dose fut administrée une seule fois, à la date précisée au tableau I. Pour la majorité des souris traitées qui moururent néanmoins de malaria, quatre critères furent utilisés : le taux de parasitémie au 6^e jour après l'infestation (P6), ainsi que le temps de prépatence (PR), de survie (SV) et celui nécessaire pour que 2 % des globules rouges soient parasités (J2 %). Un autre critère fut utilisé : le pour-cent de souris traitées mais indemnes (IND) de malaria (parasitémie nulle pendant une observation de 30 jours, complétée par une sub-inoculation négative).

Les résultats consignés au tableau I illustrent les effets habituels du glucane administré de manière répétée, à la dose totale de 120 mg/kg (exp. A) : une augmentation notable de PR, J2 % et surtout de SV, associée à une diminution de P6 chez les souris impaludées, ainsi qu'une proportion minime (IND) de souris protégées. Ils montrent également que l'administration unique d'une dose 4 fois moindre (exp. B) conduit, particulièrement pour des intervalles de temps courts entre le traitement et l'infestation, à des effets nettement plus intenses sur chacun des 5 critères. En

outre (exp. B), le calendrier posologique influence différemment l'intensité des effets du glucane, d'une part sur le taux des animaux protégés (IND) et, d'autre part, sur les 4 critères relatifs aux souris impaludées. Ainsi, le premier effet se manifeste seulement dans une étroite fenêtre de temps centrée sur le jour (-3), tandis que les autres effets sont fortement augmentés tout au long de la période expérimentale. Bien plus, ces derniers (sauf SV) augmentent au fur et à mesure que le traitement se rapproche de l'infestation ; ceci laisse présager que de tels effets pourraient également s'observer si le glucane était injecté après les sporozoïtes.

BIBLIOGRAPHIE

- GILLET (J.), JACQUES (P. J.) & HERMAN (F.), 1979.
— Particulate β -1, 3 glucan and causal prophylaxis of mouse malaria (*P. berghei*). Dans « Macrophages and Lymphocytes. Nature, functions and interaction ». Eds. Escobar, M. F. & Friedman, H.; Pub. Plenum Press, New York ; vol. A : 307-313.
- GILLET (J.), JACQUES (P. J.) & HERMAN (F.), 1980.
— Non specific resistance and etioprophyllactic action of yeast glucan in rodent malaria (*P. berghei*). Proc. 1st Intern. Conf. Immunopharmacology ; Brighton, juillet 1980 ; sous presse.

Résistance du *P. Falciparum* aux amino-4-quinoléines Conséquences épidémiologiques

M. GENTILINI

J. P. NOZAIS

Département de Parasitologie et Médecine Tropicale,
Pitié Salpêtrière, 47 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cédex

— La résistance aux antipaludéens et singulièrement aux amino-4-quinoléines, connue depuis les années 1960 et qu'on pensait circonscrite à l'Amérique tropicale et à l'Asie du Sud-Est, a été dépitée récemment au Nigeria et chez des touristes revenant d'Afrique de l'Est.

— Bien qu'il soit trop tôt pour connaître la fréquence et l'étendue exacte des souches plasmodiales résistantes en Afrique, leur existence est incontestable. Les conséquences à moyen et long terme en sont graves et doit inciter à développer les recherches vers la synthèse de nouvelles molécules, ainsi que la con-

naissance de l'intimité des mécanismes de la chimio-résistance et celle des phénomènes immunitaires intervenant au cours du paludisme qui permettront la mise au point d'une vaccination efficace.

1. MODE D'ACTION

Les amino-4-quinoléines, chloroquine et amodiaquine sont des schizontocides, n'agissant que sur les formes asexuées, circulantes des plasmodiums.

Rapidement absorbés, lentement éliminés, d'administration facile, bien tolérés et peu onéreux, ce sont les antipaludiques les plus utilisés en pays d'endémie tant pour le traitement des accès aigus que pour la prophylaxie.

. Après avoir traversé la paroi de l'hématie, les amino-4-quinoléines se concentrent dans la vacuole de l'hématozoaire. L'accumulation de la chloroquine dans le parasite serait facilitée par la présence de glucose (Fitch, *et coll.*, 1974). La pénétration dans le noyau et le blocage de la duplication de l'A.D.N. empêche la multiplication du parasite.

. Un autre mécanisme possible serait le blocage des récepteurs de surface de l'hématie empêchant ainsi la fixation du mérozoïte sur la paroi érythrocytaire, premier temps de la pénétration du parasite dans la cellule. Quoi qu'il en soit, le résultat est l'arrêt de la multiplication des hématozoaires si l'amino-4-quinoléine est employé à dose prophylactique, ou leur destruction, lorsque les produits sont utilisés à dose curative.

2. PATHOGÉNIE DE LA RÉSISTANCE

La culture prolongée d'une souche sensible de *P. falciparum* en présence de chloroquine induit l'apparition d'une chimiorésistance (Nguyen-Dinh *et coll.*, 1978). Il semble donc que la pression prolongée d'un amino-4-quinoléine sur le plasmodium, telle qu'elle est pratiquée au cours de campagnes d'éradication en pays d'endémie, puisse favoriser soit l'apparition de mutants résistants au sein d'une souche sensible soit la sélection de souches possédant le gène de résistance (enzymes de dégradation de la chloroquine ?) qui était inutile avant l'apparition des amino-4-quinoléines et qui se révèle grâce à ces drogues, privilégiant ainsi les souches qui en sont porteuses. Ce phénomène est connu chez les insectes vecteurs vis-à-vis des insecticides.

. Le facteur humain n'est cependant pas à négliger (et doit être pris en compte dans l'étude expérimentale de la résistance) : il semble en effet que, comme vis-à-vis de la sulphonamide (Gilles *et coll.*, 1974), la dénaturation de la chloroquine soit plus rapide chez certains individus sans que l'on sache s'il s'agit d'un facteur génétique, acétyleurs lents et rapides, ou d'un caractère phénotypique ponctuel. Cette notion est naturellement d'une importance capitale mais ne semble pas avoir été étudié systématiquement dans les populations habitant les zones de paludisme résistant. La possibilité d'une action de l'ano-

phèle vecteur dans la sélection de souches résistantes n'est pas non plus à négliger et on a montré, au moins dans le Sud-Est asiatique (Verdrager *et coll.*, 1976), qu'il existait une concordance entre la zone de chimiorésistance et l'aire géographique d'extension d'*Anopheles balabacensis*, vecteur important du paludisme. Cette notion est à rapprocher de ce que l'on sait concernant les rapports entre les souches de simulies en Afrique de l'Ouest et la gravité de la maladie onchocercarienne.

3. LES DIFFÉRENTS TYPES DE RÉSISTANCE

Ils ont été définis par l'O.M.S et, bien qu'arbitraires, ils rendent compte des aspects observés et permettent des comparaisons entre les divers observateurs.

Résistance de type R1 : Les formes endo-érythrocytaires asexuées disparaissent dans la semaine qui suit le traitement mais réapparaissent avant le 30^e jour (en dehors de toute réinfestation).

Résistance de type R2 : Le nombre d'hématies parasitées diminue de façon importante après traitement mais il persiste une parasitémie résiduelle, à la limite du seuil de patence.

Résistance de type R3 : A la suite d'un traitement curatif à dose efficace, aucune diminution marquée de la parasitémie n'est notée. On conçoit l'importance de l'emploi d'une dose adéquate de chloroquine : la dose totale de 1 500 mg de chloroquine base, préconisée par les auteurs anglo-saxons pourrait, à cet égard, induire chez les sujets noirs immuns, une résistance de type R1 et il paraît préférable de l'augmenter en prescrivant une cure totale de 2 500 mg étalée sur 5 jours.

4. LES MÉTHODES D'APPRÉCIATION

Les méthodes d'appréciation de la résistance sont naturellement d'une importance capitale et il faut noter, à ce propos, que l'observation clinique seule est insuffisante pour apprécier la résistance. Les différents critères à utiliser sont les suivants :

(1) Numérotation des hématies parasitées avant et après traitement avec surveillance pendant au moins 30 jours.

(2) Étude de l'absorption de l' amino-4-quinoléine par des dosages dans le plasma et dans l'urine.

(3) Test de sensibilité *in vitro* après mise en culture de la souche suspecte.

(4) Injection de la souche présumée résistante par transmission directe de la souche isolée en culture à des sujets volontaires non immuns et éventuellement, chez l'*Aotus trivirgatus* par l'intermédiaire d'anophèles nourris sur le malade.

. L'évolution de la parasitémie s'apprécie en comptant le nombre d'érythrocytes parasités, par rapport à 500 ou 1 000 leucocytes.

. Les dosages dans le plasma et les érythrocytes après hémolyse s'effectuent à l'aide d'un fluorospectrophotomètre.

. Dans les urines, la chloroquine est décelée soit par spectro-photométrie soit par le test de Dill et Glazko, bien que certains auteurs trouvent 15 à 25 % de faux négatifs avec cette technique (Dondero *et coll.*, 1974).

. Les plasmodiums résistants recueillis dans le sang circulant sont mis en culture sur milieu spécial (RPMI 1640).

Une suspension diluée des parasites est additionnée de chloroquine-base à dilution croissante. Après 24 heures d'incubation à 38°, des frottis sont confectionnés, colorés puis on compte le nombre de schizontes jeunes par rapport à 100 ou 200 parasites (Rieckmann *et coll.*, 1978).

. Il est aussi possible, à partir des souches obtenues en culture, d'inoculer des volontaires non immuns, mis à l'abri de toute contamination exogène et sur lesquels seront testés des doses variables de chloroquine-base (et d'amodiaquine).

. Il est souvent préférable d'inoculer le singe *Aotus*, éventuellement splénectomisé (Glew *et coll.*, 1978) soit à partir de la souche obtenue en culture soit à partir d'anophèles nourris sur le sujet présentant la résistance (Schmidt, 1978). On effectue des contrôles post-thérapeutiques quotidiens de la parasitémie sur une durée de 1 mois chez l'homme volontaire et de 3 mois chez le singe.

. Les doses thérapeutiques de chloroquine-base doivent correspondre à celles normalement efficaces sur des souches sensibles.

. *In vitro*, la dose de chloroquine-base, exprimée en microgramme par litre, nécessaire pour obtenir une diminution de 50 % d'érythrocytes parasités est d'autant plus élevée que la souche est plus résistante.

. La comparaison des résultats avec ceux obtenus à partir de souches connues permet de classer la résistance dans un des 3 groupes définis par l'O.M.S.

RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

C'est en Amérique tropicale que les premiers cas de résistance aux amino-4-quinoléines ont été rapportés. Les régions atteintes présentent des résistances de type R1 ou R2.

En Asie du Sud-Est, le problème de la chimiorésistance est actuellement préoccupant dans cette vaste zone géographique très-peuplée.

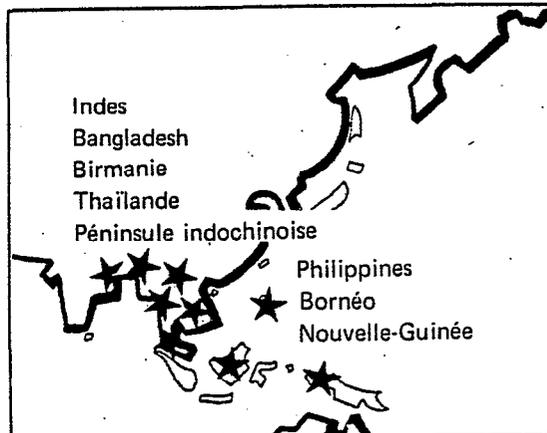
La plus grande fréquence est retrouvée au Viêt-Nam où la résistance est souvent de type R3.

Le Laos, le Cambodge, la Thaïlande (avec des résistances R2 et R3), la Birmanie et la Malaisie sont aussi concernées.

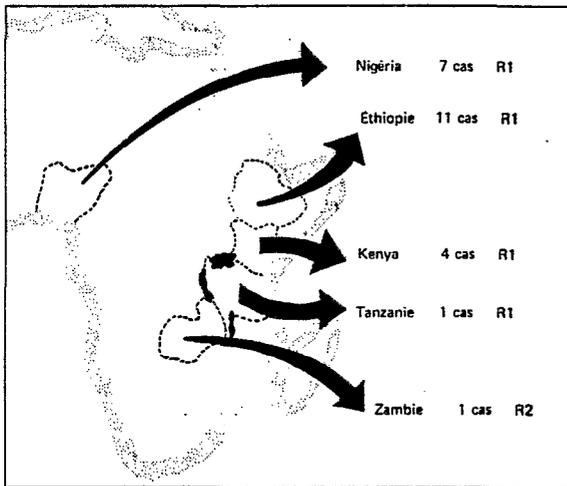
De plus, depuis une dizaine d'années sont signalés des cas de plus en plus nombreux de résistances R1 et R2 aux Philippines (Valera *et coll.*, 1976) à Bornéo et en Nouvelle-Guinée indonésienne (Ebisawa *et coll.*,



Répartition de la résistance en Amérique tropicale.



Répartition de la résistance en Asie du Sud-Est (1979).



Répartition de la Résistance en Afrique (1979).

1975). Enfin, il a été signalé des cas isolés de résistance dans l'Assam (Sehgal *et coll.*, 1973), au nord-est de l'Inde (Mitra *et coll.*, 1977) et au Bangladesh (Rosenberg *et coll.*, 1976). Bien qu'il s'agisse pour l'instant de cas peu nombreux, il semble qu'on assiste à une extension vers l'Ouest des souches de *P. falciparum* résistantes ce qui, compte tenu des événements politiques actuels et des migrations de population, ne laisse pas d'être préoccupant en raison de la possibilité d'apport de ces souches résistantes dans des zones d'endémie palustre jusque-là indemnes. En Afrique, la résistance aux amino-4-quinoléines (contrairement au proguanil et à la pyriméthamine) a longtemps été considérée comme inexistante sur le continent africain et Woodruff écrivait encore en 1974 « il est généralement admis que le paludisme à *P. falciparum* est encore sensible aux amino-4-quinoléines en Afrique ».

Depuis cette date, des observations sont venues tempérer cet optimisme. Si les 7 cas de résistance décrits au Nigeria par Olatunde, en 1977, prêtent à discussion, au moins pour 6 d'entre eux (n'étant fondées que sur l'observation clinique), en revanche, dès 1974, Dennis *et coll.*, après étude *in vitro*, décrivaient, en Éthiopie, 11 cas incontestables de résistance.

En 1978 puis en 1979, plusieurs cas, réunissant les critères d'étude définis par l'O.M.S., ont été rapportés en provenance du Kenya, de Tanzanie et de Zambie (Stille, 1979 ; Kean, 1979 ; Fogh *et coll.*, 1979 ; Khan *et coll.*, 1978). Il s'agissait, pour les 2 premiers pays, de touristes qui ont présenté leur premier accès palustre après avoir quitté la zone d'endémie.

La souche de Tanzanie a été étudiée *in vitro* et chez le singe, par Campbell *et coll.* (1979) et était de type R1.

De plus, la culture prolongée d'une souche de *P. falciparum* de Gambie en présence de chloroquine a permis le développement d'une résistance (Nguyen-Dinh *et coll.*, 1978).

Connaissant l'existence d'une certaine immunité croisée, chez le singe, entre les souches est et ouest-africaine (Voller *et coll.*, 1973) il n'est pas exclu que des souches résistantes aux amino-4-quinoléines apparaissent en Afrique de l'Ouest, en particulier dans les zones de paludisme instable.

LES RÉSISTANCES CROISÉES

Importantes à connaître et à dépister, elles existent à l'intérieur du groupe des amino-4-quinoléines (chloroquine et amodiaquine), peut-être aussi avec la mépacrine et avec l'association pyriméthamine-sulfadoxine sur les couches thaïlandaises et de Malaisie (Wye Poh, 1971) ; on sait qu'il existe des souches simultanément résistantes aux amino-4-quinoléines et aux antifoliques.

On considère en général que la quinine est efficace sur les souches résistantes aux amino-4-quinoléines, cependant il a été décrit en Nouvelle-Guinée (Clyde *et coll.*, 1976), en Thaïlande (Prapualmal Sucharit *et coll.*, 1980) à Panama (Glew *et coll.*, 1974) et en Colombie (Glew *et coll.*, 1974) des souches de *P. falciparum* résistantes à cette drogue.

Par contre, les souches africaines résistantes aux amino-4-quinoléines sont sensibles à la quinine.

LE TRAITEMENT DU PALUDISME RÉSISTANT

Dans les accès aigus, la quinine (ou la méfloquine) reste l'ultime recours lorsque les amino-4-quinoléines se seront révélés inefficaces.

Sur les souches asiatiques et américaines, il peut y avoir intérêt à utiliser d'emblée des associations d'antipaludiques dont on connaît l'action potentialisatrice et plusieurs schémas ont été proposés :

(1) Traitement de 14 jours associant quinine + sulfadiazine.

(2) Traitement de 7 jours par pyriméthamine + sulfadiazine ou dapsone.

(3) Traitement de 1 jour par l'association de sulfalène et de pyriméthamine.

(4) Traitement d'une journée par l'association pyriméthamine-sulfadoxine (Clyde, 1974).

Le traitement prophylactique pour les sujets se rendant en zone de chimio-résistance n'est pas encore parfaitement codifié et l'on choisira entre la prise journalière de chloroquine, de quinine, ou plus récemment de méfloquine, ou la prise bimensuelle de Fansidar^(R) ou d'Antémal^(R) (après avoir éliminé toute suspicion d'allergie aux sulfamides ou de susceptibilité hémato-logique aux antifoïniques).

Conséquences épidémiologiques

L'existence de souches résistantes de *P. falciparum* pose bien sûr des problèmes importants aux autorités sanitaires chargées de la lutte anti-paludique et les espoirs résident actuellement dans la mise au point d'un vaccin efficace ou d'une quinine de synthèse moins onéreuse et moins toxique que la quinine naturelle.

A ces problèmes propres aux pays d'endémie où sévit la chimiorésistance s'ajoutent, en raison des migrations saisonnières intercontinentales et des déplacements incontrôlés de populations en rapport avec les troubles politiques et sociaux qui ensanglantent maint pays du tiers monde, le risque non négligeable d'apport de souches résistantes dans des régions tropicales jusque-là indemnes, et à cet égard l'exemple du sous-continent indien et plus récemment l'Afrique de l'Est ne permet certainement pas de récuser cette possibilité qui mérite d'être prise en considération dans le recueil humanitaire des réfugiés d'Asie du Sud-Est par des pays situés en pleine zone d'endémie.

A ce risque collectif s'ajoute un risque individuel plus propre aux pays développés et un article récent du « Lancet » (anonymes, 1979) fait état de 2 000 cas de paludisme en France en 1978, de 887 cas aux États-Unis entre 1970 et 1976 et de 1 624 cas en 1978 en Angleterre.

Dans ces conditions, en dehors du risque faible mais incontestable de transmission de souches résistantes en zone indemne, s'ajoute le danger de méconnaître un paludisme résistant aux amino-4-quinoléines habituellement prescrits.

BIBLIOGRAPHIE

ANONYMES, 1979. — Malaria — the phoenix with drug resistance. *Lancet*, June 23, 1 : 1328-1329.
 CAMPBELL (C. C.), COLLINS (W. E.), CHIN (W.), TEUTSCH (S. M.) et MOSS (D. M.), 1979. — Chloroquine-

resistant *Plasmodium falciparum* from East Africa : cultivation and drug sensitivity of the Tanzanian I/CDC strain from an American tourist. *Lancet*, Dec. 1 : 1151-1154.
 Chloroquine-resistant malaria acquired in Kenya and Tanzania, 1978. — *Morb. Mortal. Wkly Rep.* Denmark, Georgia, New York, 27, 47 : 463-464.
 CLYDE (D. F.), 1974. — Treatment of drug-resistant malaria in man. *Bull. Org. mond. Santé*, 50 : 243-249.
 CLYDE (D. F.), MCCARTHY (V. C.), MILLER (R. M.) et HORNICK (R. B.), 1976. — Chloroquine-resistant falciparum malaria from Irian jaya (Indonesian, New Guinea). *J. trop. Med. Hyg.*, 79 : 38-41.
 DENNIS (D. T.), DOBERSTYN (E. B.), SISSAY (A.) et TESFAI (G. K.), 1974. — Chloroquine tolerance of Ethiopian strains of *P. falciparum* in urine. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 68, 3 : 241-245.
 DONDERO (T. J. Jr.) et MARIAPPAN (M.), 1974. — Disappointing results in Malaysia with the « Dill Glazko » eosin colour tests for chloroquine in urine. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 68, 4 : 338-339.
 EBISAWA (I.) et FUKUYAMA (I.), 1975. — Chloroquine resistance of *P. falciparum* in West Irian and East Kalimantan. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 69, 3 : 275-282
 FITCH (C. D.), CHEVLI (R.) et GONZALEZ (Y.), 1974. — Chloroquine-resistant *P. falciparum* : effect of substrate on chloroquine and amodiaquine accumulation. *Antimicrob. Agents chemother.*, 6, 5 : 757-762.
 FOGH (S.), JEPSEN (S.) et EFFERSON (P.), 1979. — Chloroquine-resistant *P. falciparum* malaria in Kenya. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 73, 2 : 228-229.
 GLEW (R. H.), MILLER (L. H.), COLLINS (W. E.), HOWARD (W. A.), WYLER (D. J.), CARBALLO (E. C.) et NEVA (F. A.), 1974. — Response to treatment in man of multidrug resistant *P. falciparum* from Panama. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 23, 1 : 1-7.
 GLEW (R. H.), BRIESCH (P. E.), KROTOSKI (W. A.), CONTACOS (P. G.) et NEVA (F. A.), 1974. — Multidrug resistant strain of *P. falciparum* from eastern Columbia. *J. Infect. Dis.*, 129, 4 : 385-390.
 GLEW (R. H.), COLLINS (W. E.) et MILLER (L. H.), 1978. — Selection of increased quinine resistance in *P. falciparum* in Aotus monkeys. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 27, 1 : 9-13.
 GILLES (M. M.) et CLYDE (D. F.), 1974. — Acétylator phenotype in sulphonamide resistant falciparum malaria. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 68, 3 : 367-368.
 KEAN (B. H.), 1979. — Chloroquine-resistant falciparum malaria from Africa. *J. Am. Med. Ass.*, 241, 4 : 395.
 KHAN (A. A.) et MAGUIRE (M. J.), 1978. — Relative chloroquine resistance of *P. falciparum* in Zambia. *Br. Med. J.*, 1 : 1669-1670.
 MITRA (N. K.) et KUNTE (A. B.), 1977. — A profile of malaria cases observed in a service hospital. *Med. J. Armed Forces India*, 33, 1 : 23-30.
 NGUYEN-DINH (P.) et TRAGER (W.), 1978. — Chloroquine resistance produced in vitro in an African strain of human malaria. *Sciences*, 200 : 1397-1398.
 OLATUNDE (A.). — Chloroquine-resistant *P. falciparum* and malaria in Africa. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 71, 1 : 80-81.
 PRAMUALMAL SUCHARIT et PRAPHATHIP EAMSOBHANA, 1980. — In vitro response of *P. falciparum* in Thailand to anti malarial drugs. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 74, 1 : 11-15.
 RIECKMANN (K. H.), CAMPBELL (G. H.), SAX (L. J.) et MREMA (J. E.), 1978. — Drug sensitivity of *P. falciparum*

- parum*. An in vitro microtechnique. *Lancet*, Jan 7 : 22-23.
- ROSENBERG (R.) et MAHESWARY (N. P.), 1976. — Chloroquine resistant *P. falciparum* in Bangladesh. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 70, 5/6 : 533.
- SCHMIDT (L. H.), 1978. — *P. falciparum* and *P. vivax* infection in the owl monkey *A. trivirgatus*. Responses to chloroquine, quinine and pyrimethamine. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 27, 4 : 703-717.
- SEHGAL (P. B.), SHARMA (M. I. D.), SHARMA (S. L.) et GOGAI (S.), 1973. — Resistance to chloroquine in falciparum malaria in Assam State India. *J. Comm. Dis.*, 5, 4 : 175-180.
- STILLE (W.), 1979. — Chloroquine-resistant tropical malaria after a visit to Kenya. *Deuts. Med. W'och.*, 104, 26 : 954-955.
- VALERA (C. V.) et SHUTE (G. T.), 1976. — Preliminary studies on the response of *P. falciparum* to chloroquine in the Philippines, with the in vitro technique. *Bull. Org. mond. Santé*, 53 : 391-398.
- VERDRAGER (J.), ARWATI, SIMANJUNTAK (C. H.) et SULIANTI SAROSO (J.), 1976. — Chloroquine-resistant falciparum malaria in East Kalimantan Indonesia. *J. Trop. Med. Hyg.*, 79 : 58.
- VOLLER (A.), GREEN (D. I.) et RICHARDS (W. H. G.), 1973. — Cross immunity studies with East and West African strains of *P. falciparum* in owl monkey (*Aotus trivirgatus*). *J. trop. med. Hyg.*, 76, 6 : 135-139.
- WYE POH FUNG 1971. — Malaria resistant to chloroquine and sulphamétoxine-pyrimethamine. *Aust. N.Z. J. Med.*, 3 : 262-264.