

du 22 Janvier 1970

SPOROGENIE CHEZ ANOPHELES GAMBIAE "A" DE SOUCHES DE
PLASMODIUM FALCIPARUM RESISTANTES A LA PYRIMETHAMINE

par

COZ J.⁺, PICQ J.J.⁺⁺ et RICOSSÉ J.H.⁺⁺

La pyriméthamine, "Daraprim, Malocide, Erba-prelima, Chloridine", est un produit qui fut largement utilisé, tant comme agent curatif que prophylactique, d'une part pour sa faible toxicité pour l'homme, d'autre part pour son modique coût de revient.

L'apparition de souches résistantes de Plasmodium falciparum à ce composé se produisit sous l'action du proguanil, "Bigumal, Chlorguanide, Chloriguane, Paludrine, Palusil ...", ou de la pyriméthamine elle-même (Robertson et al. 1952, Wilson et Edeson 1953, Ricossé et al. 1967).

L'activité de la pyriméthamine sur les différents Plasmodidae se manifeste en inhibant la division schizogonique, elle est active sur certaines formes pré-érythrocytiques de P.falciparum (Pampana 1963), et, principal intérêt de son emploi, elle a une activité anti-sporogonique.

⁺ Pharmacien-chimiste des Armées, Entomologiste médical O.R.S.T.O.M.

⁺⁺ Médecin des Armées, Bactériologiste des hôpitaux des Armées.

10 JUIN 1987
O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 20766 M
Cpte : B 80

(Foy et Kondi 1952, Shute et Maryon 1954, Burgess et Young 1959, Ricossé et al. 1959). En fait, et ceci vient compléter les hypothèses précédentes, la pyriméthamine agit en empêchant la transformation de l'acide folique, qui provient de l'acide para-amino-benzoïque, en acide folinique, composé indispensable à la schizogonie, aussi bien chez le moustique que chez l'homme (Modell 1968).

La mise en évidence de souches de P.falciparum, résistantes à la pyriméthamine, se fera d'une part par la recherche de parasites chez l'homme traité (technique de la goutte épaisse), d'autre part en procédant à des infections expérimentales d'anophèles vecteurs.

Le présent travail a pour but de vérifier le pouvoir infectif de certaines souches de P.falciparum supposées résistantes à la pyriméthamine.

Contexte épidémiologique

Les sujets soumis à l'expérimentation appartenaient à un contexte épidémiologique qu'il est nécessaire d'exposer car à notre sens il représente un des aspects particuliers de cette expérimentation.

Le cadre en est le village de Koumbia en Haute-Volta où l'aspect de l'endémie palustre a été quelque peu modifié par une expérimentation de chimioprophylaxie menée en 1969 pour la 3ème année consécutive.

Ce village est situé en savane voltaïque sur l'axe routier Bobo-Dioulasso - Ouagadougou, le climat y est du type sud soudanien. Le paludisme y sévit de façon holoendémique = (Choumara et al. 1959).

L'expérimentation de chimioprophylaxie avait pour but, en modifiant légèrement les protocoles d'année en année d'étudier l'action à dose hebdomadaire d'une part de la pyriméthamine et de la diaphénylsulfone (D.D.S.) d'autre part de l'association pyriméthamine -D.D.S., ceci sur les enfants de la tranche d'âge de 2 à 9 ans.

De plus, en 1958, avait été reconnue à Koumbia l'existence d'une souche (ou de souches) de P.falciparum résistantes à la pyriméthamine (Ricossé et al. 1959).

En 1967 dès la reprise de l'utilisation de la pyriméthamine, cette résistance est réapparue (Ricossé et al. 1969) et n'a fait depuis que s'accentuer.

CHOIX DES SUJETS

Les sujets soumis à l'expérimentation étaient des porteurs de gamétocytes choisis sur "le terrain" après examen d'une goutte épaisse.

au total 11 sujets

6 sujets témoins avec "placebo" âgés respectivement de 2,4,4, 5,8 et 9 ans

5 sujets "pyriméthamino-résistants" âgés respectivement de 2,3,4,5 et 8 ans.

L'expérimentation s'est étendue sur 2 semaines à raison de 5 sujets la première semaine dont 2 sujets "pyriméthamino-résistants". 6 sujets la 2ème semaine dont 3 sujets "pyriméthamino-résistants".

Avant chaque tentative d'infestation des anophèles, des numérations gamétocytaires furent réalisées sur gouttes épaisses, sur la base de 2.000 globules blancs sans distinction entre gamétocytes mâles et femelles et rapportés à la numération globulaire.

Dans ces conditions les chiffres trouvés s'étagent suivant les sujets entre 5 et 80 gamétocytes par mm³. Ce sont des chiffres faibles ou assez faibles qui expliquent selon toute vraisemblance, les pourcentages d'infestation obtenus chez les moustiques. Mais ce sont les chiffres tout venant que nous rencontrons habituellement dans cette tranche d'âge de 2 à 9 ans pour cette zone d'holoendémie palustre.

DISCUSSION SUR LES CHOIX DES SUJETS

Au moment de l'expérimentation, les sujets porteurs de souches résistantes à la pyriméthamine en étaient respectivement à leur 23ème et à leur 24ème prises hebdomadaires de pyriméthamine à raison de 12,5 mg par semaine, pour les sujets de 2 à 4 ans et de 25 mg pour les sujets de 5 à 9 ans.

Quant aux sujets "placebo" non soumis à la chimioprophylaxie, ils pourraient se présenter de prime abord comme des témoins type, s'ils ne se trouvaient précisément dans le milieu épidémiologique particulier du village de Koumbia où une pression médicamenteuse maintient en circulation à un niveau assez élevé une souche (ou des souches) pyriméthamino-résistante. C'est dire que même non soumis à la prophylaxie pyriméthaminée ces sujets peuvent être infestés par un mélange de souches pyriméthamino-résistantes et pyriméthamino-sensibles.

Cette remarque faite, l'on peut dire que les 2 groupes d'enfants soumis à l'expérimentation: celui sous pression pyriméthaminée et celui recevant un placebo, sont assez représentatifs du milieu épidémiologique dans lequel ils ont été choisis.

De plus par l'âge des sujets qui les composent, par la semi-immunité qui est celle de cette tranche en milieu holoendémique et par leur numération gamétocytaire voisine ils apparaissent en tous points comparables.

INFECTIONS EXPERIMENTALES

Nous avons utilisés pour nos infections expérimentales des A.gambiae appartenant à l'espèce A du complexe A.gambiae Giles Davidson et Jackson 1962.

Ces moustiques proviennent de la souche "Pala" maintenue en insectarium depuis plusieurs années et déjà testées pour sa sensibilité à P.falciparum. Des femelles, âgées de 3 et 4 jours ont été placées dans des gobelets en carton fermés par du tulle de moustiquaire par lots de 25. Laissés dix minutes en contact avec les enfants paludéens, les moustiques ont été ensuite anesthésiés à l'éther éthylique, les femelles "à jeun" tuées et les gorgées mises en observations.

Les gobelets avec moustiques gorgés ont été placés dans une pièce de l'insectarium à une température de 25-26°C et une humidité relative de 70-80%; la nourriture d'entretien était constituée d'une solution de glucose à 5% imprégnant des tampons de coton hydrophile placés sur les gobelets.

RESULTATS ET DISCUSSION

Sur les 11 enfants testés trois ont donnés des résultats complètement négatifs, un chez les sujets pyriméthaminés 2 chez les témoins. Les examens ont porté sur les estomacs et les glandes salivaires des moustiques, 12,13,14,15 jours après le repas infectant, suivant les séries; les oocystes sont classés "mûrs", lorsqu'ils éclatent à la pression, libérant des sporozoïtes, ou "immatures".

Après 12 jours, les oocystes sont mûrs, mais il n'y a pas encore de sporozoïtes dans les glandes salivaires. Par contre les jours suivant on trouve des glandes salivaires infectées, ce qui nous permet d'admettre dans nos conditions de travail un cycle extrinsèque de 13 jours chez A.gambiae A.

Les résultats sont présentés globalement d'une part pour les témoins ne recevant qu'un "placebo", d'autre part pour les sujets sous pression pyriméthaminée (Tableaux 1 et 2). Nous notons tout d'abord que la proportion d'oocystes immatures par rapport au total des oocystes est la même dans les deux catégories considérées; la contingence quadratique est égale à 0,182 pour un degré de liberté. De plus l'analyse des taux d'oocystes mûrs par rapport aux estomacs négatifs, nous montre qu'il n'y a aucune différence entre les deux groupes de sujets ($\chi^2 = 0,003$ pour 1.d.l.). Par contre les indices sporozoïtiques obtenus à partir des mêmes moustiques sont significativement différents ($\chi^2 = 5,92$ pour 1.d.l.). Il y a plus de moustiques présentant, à l'issue du temps normal d'évolution, de sporozoïtes dans les glandes salivaires chez les témoins que chez les sujets sous pression sélective.

Pour Foy et Kondi (1952), les A.gambiae s.l. nourris sur porteurs de gamétocytes de P.falciparum, préalablement soumis à des doses de 20 à 50 mg de pyriméthamine, n'ont pas permis l'évolution de ce parasite, ils se sont tous avérés négatifs au bout de 18 jours. Shute et Maryon (1954) estiment que la pyriméthamine, antagoniste de l'acide para-amino benzoïque agit sur les formes asexuées du parasite au moment de la division nucléaire.

Tableau 1

Infections stomacales comparées d'A.gambiae A avec P.falciparum témoin et P.falciparum résistant à la pyriméthamine.

	Oocystes		Estomacs négatifs	TOTAL
	immatures	mûrs		
Témoin	2	23	256	281
Pyr. Résist.	3	21	230	254
TOTAL	5	44	486	535

Tableau 2

Infections salivaires comparées d'A.gambiae A avec P.falciparum témoin et P.falciparum résistant à la pyriméthamine.

	Sporozoïtes		Gl.salivaires négatives	TOTAL
	N	%		
Témoin	22	9,41	212	234
Pyr.Résist.	11	4,04	261	272
TOTAL	33		473	506

Pour Burgess et Young (1959), la pyriméthamine n'empêche pas la production des gamétocytes, ni leur développement: par contre, elle agirait sur le cycle sporogonique; les oocystes se forment, mais n'évoluent pas: pour ces auteurs, il y a évidence de la mort des oocystes, qui restent toutefois attachés sur la paroi stomacale.

Bray et al. (1959) démontrent que des doses de 25 à 30 mg de pyriméthamine, en une seule prise, empêchent la production de sporozoïtes jusqu'à 28 jours après l'administration du produit.

Ricossé et al. (1959), mettent en évidence de la résistance à la pyriméthamine au village de Koumbia, région de Bobo-Dioulasso; ils la contrôlent en infectant des A.gambiae s.l., issus de femelles sauvages: ils obtiennent 2 infections salivaires sur 15 dans une première série, 2 sur 22 dans une seconde.

Notre expérimentation va dans le sens du précédent travail, la résistance à la pyriméthamine se traduit, chez P.falciparum, par la possibilité de continuer son cycle sporogonique jusqu'au stade "sporozoïte", toutefois l'examen de nos résultats, en particulier la différence significative observée au niveau des indices sporozoïtiques, nous amène à considérer qu'il se produit toujours une certaine inhibition, qui, ne va pas évidemment jusqu'à bloquer l'évolution sporogonique, mais, la ralentit et corrobore les hypothèses de Burgess et Young (Ibid.) et Shute et Maryon (Ibid.) quant à l'activité du produit sur les mécanismes de division cellulaire.

RESUME

Les auteurs ont infectés expérimentalement des A.gambiae^A sur des enfants, sous prophylaxie pyriméthaminée, porteurs de gamétocytes de P.falciparum et sur des témoins.

La sporogonie se passe normalement avec le Plasmodium résistant; tout au plus observe-t-on un léger ralentissement de son évolution.

SUMMARY

The authors have infected A.gambiae A on children prophylactised with pyrimethamine, carrying gametocytes of P.falciparum, and on checks.

There is no inhibition of sporogony with resistant strains, at most we observe a slight slowing down of sporogonic évolution.

BIBLIOGRAPHIE

BRAY (R.S.), BURGESS (R.W.), FOX (R.M.) et MILLER (M.J.), 1959.-

Effect of pyrimethamine upon sporogony and pre-erythrocytic schizogony of Laverania falciparum.

Bull.Org.mond.Santé, 21, 233.

BURGESS (R.M.) and YOUNG (M.D.), 1959.-

The development of pyrimethamine resistance by Plasmodium falciparum.

Bull.Org.mond.Santé, 20, 37.

CHOUMARA (R.), HAMON (J.), BAILLY (H.), ADAM (J.P.) et RICOSSE (J.H.), 1959.-

Le paludisme dans la zone pilote de Bobo-Dioulasso, Haute-Volta.

Cahiers ORSTOM, Paris, I

DAVIDSON (G.) et JACKSON (C.E.), 1962.-

Incipient speciation in A.gambiae Giles

Bull.Org.mond.Santé, 27, 203

FOY (H.) and KONDI (A.), 1952.-

Effect of Daraprim on the gametocytes of Plasmodium falciparum

Trans.Roy.Soc.trop.Med.Hyg., 48, 50

MACDONALD (G.), 1957.-

The epidemiology and control of Malaria

LONDON

MODELL (W.), 1968.- Malaria and victory in Vietnam
Science, 162, 1346

PAMPANA (E.), 1963.-
A textbook of Malaria eradication
LONDON

RICOSSE (J.H.), BAILLY-CHOUMARA (H.), ADAM (J.P.) et HAMON (J.), 1959.-
Résultats d'une expérimentation de chimioprophylaxie par la pyriméthamine
dans la zone pilote de lutte antipaludique de Bobo-Dioulasso.
Bull.Soc.Path.exot., 52, 516.

RICOSSE (J.H.), COZ (J.) et BARBIE (Y.), 1967.-
La résistance des hématozoaires aux antipaludiques
Méd.Afr.Noire, 6, 305.

RICOSSE (J.H.), PICQ (J.J.), COZ (J.) et CHARMOT (G.), 1969.-
Faits nouveaux relatifs à l'épidémiologie et au contrôle du paludisme
en Afrique tropicale francophone.
Trans.R.Soc.trop.Med.Hyg., 63, S, 36.

ROBERTSON (G.I.), DAVEY (D.), et FAIRLEY (N.H.), 1952.-
Cross resistance between "Daraprim" and proguanil
Brit.Méd.J., 6, 1255.

SHUTE (P.G.) and MARYON (M.), 1954.-
The effect of pyriméthamine (Daraprim) on the gametocytes and oocysts
of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax.
Trans.Roy.Soc.trop.Med.Hyg., 48, 50.

WILSON (T.) and EDESON (J.F.B.), 1964.-
Drug resistant falciparum malaria.
Trans.roy.Soc.Med.Hyg., 58, 95.

MISSION O.R.S.T.O.M.
AUPRES DE L'O.C.C.G.E.

CENTRE MURAZ
O.C.C.G.E. - BOBO-DIOULASSO
HAUTE-VOLTA

Ce travail a reçu l'assistance financière de l'Organisation Mondiale
de la Santé.