

SURVEILLANCE DE LA CHIMIORESISTANCE DE PLASMODIUM FALCIPARUM A YAOUNDE ET SES ENVIRONS- CAMEROUN. ETUDE IN VIVO, IN VITRO.

C. HENGY¹, G. GARRIGUE⁴, B. ABISSEGUE³, N.A. GHOGOMU², P. GAZIN¹, H. GELAS¹, D. KOUKA-BEMBA¹, J. LEBRAS⁴, R. JAMBOU¹

RESUME

Sur 172 patients suivis à Yaoundé, 60% présentent un paludisme résistant à la chloroquine, 37% à l'amodiaquine, avec une bonne corrélation vitro-vivo. La quinine et la méfloquine conservent toute leur efficacité.

Sur 30 souches prélevées dans un dispensaire rural où l'automédication est moins importante, 27% sont résistantes à la chloroquine, ce qui semble plus proche de la réalité.

De nouveaux schémas thérapeutiques de première et deuxième intention en zone d'endémie doivent être évalués.

Mots-Clefs: Paludisme, *Plasmodium falciparum*, chimiothérapie, test in vivo, test in vitro, chloroquine, amodiaquine, quinine, Cameroun

I - INTRODUCTION

La chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* aux anti paludéens se définit comme la persistance ou la réapparition des signes cliniques et des parasites au-delà du sixième jour d'un traitement bien conduit (1).

Les premiers cas de résistance à la chloroquine ont été signalés en 1960 au Venezuela et en 1961 en Thaïlande (25).

En 1972 la chloroquino-résistance est suspectée en Afrique de l'Est, puis confirmée en 1978 par des études menées au Kenya et en Ethiopie (5).

En 1985 les premiers cas sont rapportés d'abord sur le littoral camerounais (18,24), puis dans les autres pays d'Afrique Centrale (19,21).

La résistance est décrite à Yaoundé en décembre 1986 (12) après la survenue d'accès palustres chez des expatriés sous chimioprophylaxie correcte.

Pour préciser la situation de la résistance, nous avons mené une étude de la sensibilité *in vivo* et *in vitro* dans trois dispensaires de Yaoundé et en milieu rural proche de la ville en 1987 et 1988.

II - MATERIEL ET METHODES

A) POPULATION

L'étude a eu lieu de janvier 1987 à mars 1988. Les sujets de l'étude sont des consultants fébriles résidents à Yaoundé, qui se présentent à l'OCEAC, au dispensaire des Forces Armées ou au Bureau Paludisme pour recherche de *Plasmodium*.

Les critères de sélection sont : une parasitémie supérieure ou égale à 1000 trophozoïtes par microlitre de sang, associée à la notion d'absence de prise d'antipaludéens à l'interrogatoire, à dose curative, dans les deux jours précédant la consultation, et à l'absence de signe majeur de gravité, ni de vomissements répétés.

¹ OCEAC BP 288 YAOUNDE-CAMEROUN

⁴ Hôpital Claude Bernad 75944 Paris Cedex 19.

³ Centre Médical Militaire BP 1162 Yaoundé

² Ministère de la Santé Publique du Cameroun, Yaoundé

SUMMARY

Among 172 strains collected in Yaoundé 62% are chloroquine-resistant, 37% are amodiaquine-resistant, instead of quinine and mefloquine which are completely efficient.

Among 30 strains collected at a rural health center (where self-treatment decreases), 27% are chloroquine-resistant.

New therapeutic schemes for first and second line treatment in endemic areas must be evaluated.

Key-Words: Malaria, *Plasmodium falciparum*, in vitro test, in vivo test, chemotherapy, chloroquine, amodiaquine, quinine, mefloquine, Cameroon

219 sujets sont inclus dans l'étude

B) TESTS IN VIVO

4 protocoles thérapeutiques sont utilisés:

- 95 sujets sont traités par la chloroquine à la dose de 35 mg/kg en 5 jours (10,10,5,5,5 mg/kg).

- 73 sujets sont traités par l'amodiaquine à la dose de 25 mg/kg en 5 jours ;

- 24 sujets sont traités par la quinine *per os* à la dose de 8 mg/kg toutes les 8 heures de quinine base pendant 3 jours ;

- 24 sujets sont traités par la quinine *per os* à la dose de 8 mg/kg toutes les 8 heures de quinine base pendant 5 ou 7 jours.

- 19 sujets sont traités par la méfloquine à la dose de 25 mg/kg en 2 prises (poids inférieur à 60 kg) ou 3 prises (poids supérieur à 60 kg en 24h sans dépasser 1,5 g).

La parasitémie est déterminée sur frottis mince (lecture sur 200 champs de 200 hématies) et sur goutte épaisse pour les parasitémies faibles (lecture sur 2000 leucocytes).

L'efficacité thérapeutique est jugée sur la disparition des symptômes et de la parasitémie à J3 et J7;

C) TESTS IN VITRO

La technique utilisée est le semi microtest de LE BRAS et DELORON (7, 17; 20). Les microplaques de culture contenant les anti paludéens sont préparées et contrôlées à Paris par le Centre National de Référence de la chimiosensibilité du Paludisme. Les résultats sont exprimés en CI50 et CI90 c'est-à-dire en concentration de médicament inhibant 50 et 90 % de la maturation du parasite par rapport aux cultures témoins.

III - RESULTATS

194 sujets (89 %) sont des Camerounais, 25 sujets (11 %) sont des Européens expatriés à Yaoundé.

- l'âge moyen des sujets est de 6,6 ans avec des extrêmes de 6 mois à 49 ans. 85 % des sujets ont moins de 15 ans.

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 30.388 ex 1

Cote : B M

VIII 37

IN VIVO (tableau n° 1)

		J0	REVUS	SUCCES	ECHecs	% ECHEC
PREMIERE INTENTION	CHLOROQUI	95	54	22	32	60
	AMODIAQUIL	73	54	34	20	37
	QUININE 3J	21	21	14		
	" 5J	2	2	2	0	
	" 7J	22	22	22	0	
	MEFLOQUIL	19	19	19	0	
DEUXIEME INTENTION	QUININE 5J	21	21	20	1	
	" 7J	25	25	25	0	
	SULF-PYRIM.	4	4	4	0	
	MEFLOQUIL	2	2	2	0	

TABLEAU 1 TESTS IN VIVO

172 malades (78,5 %) sont revus jusqu'au 7ème jour (tableau 1)

- parmi les 54 malades traités à la chloroquine, 32 présentent une résistance *in vivo* soit 60 %

- parmi les 54 malades traités à l'amodiaquine, 20 présentent une résistance *in vivo* soit 37 %

- parmi les 24 malades traités à la quinine orale en 5 ou 7 jours nous n'observons pas d'échec ;

- sur les 21 malades traités à quinine orale en 3 jours, 7 présentent une parasitémie positive à J3, ce qui nous a amené à poursuivre (avec succès) le traitement sur 5 jours.

- les 19 malades traités à la méfloquine ne présentent pas d'échec

Les résistances observées *in vivo* ne discriminent pas les RI précoces RII, RIII Les RI tardives (au delà de 7 jours) ne sont pas détectées

Au total 52 malades soit 30% ont nécessité des traitement de deuxième intention :

- 4 traitements par sulfadoxine-pyriméthamine, 2 par méfloquine, 25 par quinine orale sur 7 jours, 21 par quinine orale sur 5 jours..

Nous avons observé un échec au 7ème jour après traitement de 2ème intention à la quinine orale sur 5 jours. Il a été traité avec succès par la méfloquine en 3ème ligne.

IN VITRO (tableau n°2)

	SEUIL	NOMBRES	SENSIBLE	RESISTANT	% RESIST.
CHLOROQUIL	100 nM	155	62	93	60
AMODIAQUIL	60 nM	113	85	28	25
	50 nM	113	71	42	37
QUININE	450 nM	126	124	2	
MEFLOQUIL	27 nM	26	26	0	

TABLEAU 2 TESTS IN VITRO

155 tests avec la chloroquine, 113 tests avec la monodéséthylamodiaquine (métabolite actif de l'amodiaquine), 126 tests avec la quinine, et 26 tests avec la méfloquine ont été effectués sur les souches prélevées chez les sujets sélectionnés à Yaoundé

30 tests avec la chloroquine et la quinine sont effectués sur des souches prélevées sur des sujets vivant en zone rurale : Otélé A Yaoundé

- 93 (60 %) des 155 souches testées envers la chloroquine sont résistantes (CI50 > 100 nmol/l).

- 28 (25 %) des 113 souches testées envers la monodéséthylamodiaquine sont résistantes (CI50 > 60 nmol/l). Avec un seuil de 50 nmol/l 37 % des souches sont résistantes *in vitro* ;

- 126 souches sont testés envers la quinine. Le seuil de CI50 de la sensibilité est de 450 nmol/l (21). Deux souches présentent une baisse de sensibilité avec une CI50 à 460 nmol/l et 465 nmol/l.

- 26 souches sont testés envers la méfloquine. Le seuil de sensibilité *in vitro* à la méfloquine est encore indéterminé, pour certains auteurs il serait de 27 nmol/l (22) La CI50 moyenne est ici très basse à 4,86 nMol +/- 1,7.

A Otélé

- 8(26 %) des 30 souches testées envers la chloroquine sont résistantes (CI50 > 100 nmol/l) ;

- aucune des souches ne présente de baisse de sensibilité envers la quinine.

IV DISCUSSION

Les premiers cas de chloroquino résistance *in vivo* et *in vitro* au Cameroun ont été observés en 1985 chez deux enfants européens en provenance de Limbé (24). Dans une enquête réalisée à la même période dans trois ville du Sud-Cameroun (Kumba, Douala et Yaoundé) sur des enfants de 5 à 15 ans, BRASSEUR et coll. (2,3,9) ne trouvent aucune résistance *in vitro* (72 tests dont 8 à Yaoundé). Toujours en 1985 ils étudient 74 souches de Bertoua dans l'est du pays et 34 souches de Ngaoundéré dans le Nord sans trouver de résistance. Tandis qu'à Garoua dans le Nord du pays deux souches sur 37 testées présentant une CI50 supérieure à 100 nmol/l (4).

Dans le sud à Kribi 56 % de résistance à la chloroquine est observé en 1986 (14).

En 1985-1986, CLAUSSE (18) observe à Limbé respectivement 65 % et 4 % de résistance *in vitro* à la chloroquine et à la monodéséthylamodiaquine, chez 288 malades ; le taux d'échec *in vivo* de ces deux médicaments à la dose de 25 mg/kg s'élève à 33 % (n= 55) et 17 % (n = 50). A la dose de 35 mg/kg d'amodiaquine, le taux d'échec est à 2 % (n = 44) à J7 (21).

Les différents modes d'échantillonnage rendent difficile l'appréciation du taux de prévalence des souches résistantes dans la population générale.

Nous avons étudié des malades atteints d'accès palustre qui ne sont pas représentatifs de la population impaludée de Yaoundé.

L'automédication en ville à la chloroquine est très importante. Une enquête paludométrique réalisée en septembre 1985 par JOSSE et coll (13) montre que 64 % des parents en cas d'accès fébriles de leurs enfants pratiquent une automédication à des doses insuffisantes de chloroquine (5 à 20 mg/kg en 1 prise).

Ce sont surtout les échecs de la thérapeutique de première intention instituée à domicile qui sont observés dans les dispensaires. Ceci explique le haut niveau observé de résistance à la chloroquine (60 %), supérieur aux 28% de souches résistantes mise en évidence par Ghogomou et coll chez des enfants scolarisés asymptomatiques (11)

En zone rurale l'automédication semble moins importante, et la démarche de consultation médicale plus systématique, lorsqu'il existe un dispensaire.

Le taux de résistance *in vitro* y est moins élevé qu'à Yaoundé, ce qui semble plus proche de la réalité.

L'absence de prise en compte des parasitémies au delà de J7 entraîne une sous évaluation du nombre d'échecs thérapeutiques par ignorance des rechutes tardives. Elle est justifiée par la nécessité d'exclure les réinfestations

Les résultats thérapeutiques des tests *in vivo* confirment le seuil de la chloroquine *in vitro* tel que le définit Le Bras (17,19,loc.cit.)

Pour la monodéséthylamodiaquine il a proposé le seuil à 60 nmol/l. Ce seuil est déterminé pour des doses thérapeutiques de 35 mg/kg d'amodiaquine-base sur 5 jours. Dans notre étude nous traitons les malades avec 25 mg/kg ce qui explique la discordance vivo-vitro (37-25). Avec un seuil abaissé à 50 nmol/l, nous obtenons 71 souches résistantes *in vitro* soit 37 % de résistance, chiffre tout à fait comparable aux tests *in vivo*.

V CONCLUSION

Cette étude montre qu'il existe, chez les consultants de dispensaires de Yaoundé des souches de *Plasmodium falciparum* présentant un haut niveau de résistance. La chloroquine garde sa place de médicament de première intention notamment dans le traitement présomptif de l'accès palustre. Mais une absence de régression des signes cliniques dans les 48 heures implique consultation médicale et un diagnostic car seulement une fièvre sur trois est d'étiologie palustre en Afrique (6,10,15). Au niveau des dispensaires urbains, l'amodiaquine à la dose de 25 mg/kg sur 5 jours apporte un avantage thérapeutique par rapport à la chloroquine (63 % de succès contre 40 %)

BIBLIOGRAPHIE

1. Anonyme
chimiothérapie du paludisme et résistance aux antimalariques
OMS serie des rapports techniques 1973, n°529
2. Brasseur P., Druilhe P., Kouamou J., Brandicourt O., Danis M., Moyou S.R.
High level of sensitivity to chloroquine of 72 *Plasmodium falciparum* isolates from southern Cameroon in January 1985
Am. J. Trop. Med. Hyg. -1986, 35, 4, 716-721
3. Brasseur P., Druilhe P., Kouamou J., Danis M.
Chimiosensibilité in vitro de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine, quinine, méfloquine au Cameroun
Bull. Soc. Fr. Parasitol. -1985, 1, 13-15
4. Brasseur P., Druilhe P., Kouamou J., Moyou S.R.
Emergence of *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance in the sahel of West Africa
Trans. Roy. Trop. Med. Hyg. -1987, 81, 162-162
5. Campell C.L., Chin W., Collins W.E., Tentsh. S.M., Moss
Chloroquine résistance of *P. falciparum* from East Africa : cultivation and drug sensitivity of the strains
Lancet -979, ii, 1151-1154
6. Charmot G., Roze J.M.
Paludisme de forêt et de savane dans l'Afrique de l'ouest
Bull. Soc. Geogr. -1978, 83, 75-80
7. Deloron P., Le Bras J., Andrieu B., Hartmann J.F.
standardisation de l'épreuve de chimiosensibilité in vitro de *Plasmodium falciparum*
Path. Biol. 1982, 6, 585-
8. Dennis M.B et al
Rap. Tech. Ins. Malar., Phnom Penh 1988
9. Druilhe P., Brasseur P. et al
Plasmodium falciparum drug résistance in West Africa
Ann. Soc. Belge Med. Trop. -1986, 66, 297-300
10. Gaermynck E., Hengy C., Le Hesran J.Y., Lema G.
Traitement présomptif de l'accès palustre par nivaquine 300
Med. Digest 1986, 12, 19-2
11. Ghogomu N.A., Mfonfu D., Ngintendem B.
La sensibilité in vivo de *Plasmodium falciparum* aux médicaments antipaludéens classiques chez les enfants des écoles primaires et maternelles de Yaoundé. *Premières assises internationales sur le paludisme en Afrique 31 mai-4 juin 1988, Yaoundé Cameroun*
12. Hengy C., Natois C., Lebras J., Avenec M.F., Kouka-bemba D., Garrigue G.
Extention de la chloroquine-résistance de *Plasmodium falciparum* au Cameroun
Journées de parasitologie des Instituts Pasteur d'outre-mer 1987, 22-23 mai
13. Josse R., Merlin M., Le Hesran J.Y., Foumane Ngane V.
Evaluation des indices épidémiologiques du paludisme en saison des pluies à Yaoundé
Bull. OCEAC 1987, 79, 39-48
14. Kouamou J., Enyong P., Brasseur P., Moyou S.R., Druilhe P.
Nouveau foyer de paludisme chloroquino-résistant en zone forestière au Cameroun
Bul. Soc. Path. Ex. 80, 1987, 452-458
15. Le Noble D.R., Kombilla M., Chandénier R., et coll.
Paludisme au Gabon : étude de 500 enfants fébriles de Libreville
ull. Soc. Path. Ex 1986, 79, 284-287
16. Le Bras J.
L'amodiaquine et les autres amino 4 quinoléines
Premières assises internationales sur le paludisme en Afrique 1 mai-4 juin 1988, Yaoundé Cameroun
17. Le Bras J., Andrieu B., Hatin I., Savel J., Coulaud J.P.
Plasmodium falciparum : interprétation du semi-microtest par incorporation de 3H-hypoxanthine
Path. Biol 1984, 32, 436-466
18. Le Bras J., Clause J.L., Charmot G., Le Hesran J.Y., Avenec
Emergence épidémique d'un foyer de paludisme chloroquino résistant au Sud-Cameroun en février 1985
Bull. Epidémiol. Hebdom. Min. Santé, Paris 1985, 22, 15
19. Le Bras J., Coulaud J.P.
Evolution de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* en Afrique entre 1983 et 1985
Med. Hyg. 1986, 44, 618-625
20. Le Bras J., Deloron P.
In vitro study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: evaluation of a new semi-micro-test
Am. J. Trop. Med. Hyg. , 1983, 32, 447-451
21. Le Bras J., Simon F.
Evolution de la chimiosensibilité du paludisme en 1986
Bull. Epidemiol. Hebd. Min. Santé Paris , 1987, 22, 85-87
22. Le Bras J., et al.
Sensibilité de *Plasmodium falciparum* aux quinoléines et stratégies thérapeutiques : comparaison de la situation en Afrique et à Madagascar entre 1983 et 1986
Bul. Soc. Path. Exo. -1987, 80, 477-489
23. Oduola et coll
Lancet 1987, 1250
24. Sansonetti P.J., Le Bras J., Verdier F., Charmot G., Dupont B., Lapresle C.
Chloroquine-résistant *Plasmodium falciparum* in Cameroon
Lancet -1985, i, 1154-1155
25. Wernsdorfer W.H.
Paludisme pharmaco-résistant : situation d'urgence chronique
Bull. OMS -1983, 37, 12-15