

SENSIBILITE IN VITRO DE PLASMODIUM FALCIPARUMA L'ARTEMETHER AU CAMEROUN EN 1993

RINGWALD P (1), LOUIS FJ (1), BICKI J (1), DABAN A (2), FARGIER JJ (3)

L'artéméther (Paluther 80 mg ®, Rhône Poulenc Rorer Doma) est dérivé du Qinghao, plante utilisée depuis longtemps, avec succès, dans la pharmacopée chinoise pour le traitement des accès palustres.

Ce nouvel antipaludique, aux propriétés maintenant bien connues (1), est en cours de commercialisation en Afrique francophone. Mais on ne dispose encore que de peu de renseignements sur son efficacité réelle sur les souches africaines de *Plasmodium falciparum* (2, 3, 4) et il est difficile de situer avec précision sa place dans les stratégies nationales de lutte.

Nous rapportons ici les résultats des mesures effectuées à Yaoundé en 1993. Les objectifs étaient d'étudier *in vitro* la sensibilité à l'artéméther d'isolats de *Plasmodium falciparum*, d'étudier conjointement la sensibilité *in vitro* de ces isolats aux principaux antipaludiques (chloroquine, quinine, méfloquine, halofantrine) et de rechercher l'existence d'une résistance croisée potentielle entre ces molécules.

MATERIEL ET METHODE:

Recrutement des sujets:

Les isolats de *Plasmodium falciparum* ont été obtenus à partir de prélèvements veineux au pli du coude de patients, adultes et enfants, consultant dans un dispensaire de Yaoundé pour accès palustre simple avec parasitémie monospécifique supérieure à 0,1%.

Réalisation des test *in vitro*:

La technique utilisée a été le semi-microtest de Le Bras et Deloron dans sa version isotopique (5).

Pour chaque molécule, 7 dilutions ont été distribuées dans les 24 puits des boîtes de culture en duplicate ou triplicate, 3 puits vides servant de témoin.

Les gammes de dilution utilisées ont été les suivantes:

artéméther:	0,5-64 nM
chloroquine:	12,6-1600 nM
quinine:	25-1600 nM
méfloquine:	2,5-400 nM
halofantrine:	0,25-32 nM

Les résultats sont exprimés en concentration inhibitrice 50% (CI50) correspondant à la concentration d'antipaludique inhibant 50% de la croissance des parasites. Cette CI50 est calculée à partir d'une droite de régression log-logit de la courbe dose-réponse. Le seuil de résistance a été fixé à 100 nM, 600 nM, 30 nM et 5 nM pour la chloroquine, la quinine, la méfloquine et l'halofantrine respectivement. Le seuil de résistance pour l'artéméther n'est pas encore connu.

Les tests statistiques utilisés ont été le test U de Mann Withney pour la comparaison des moyennes et le test des rangs de Spearman pour la recherche de corrélation.

RESULTATS:

39 isolats ont été testés vis à vis des 5 molécules antipaludiques. Les résultats sont donnés dans les tableau I et II:

Tableau I: Sensibilité *in vitro* de 39 isolats de *Plasmodium falciparum* à l'artéméther, la chloroquine, la quinine, la méfloquine et l'halofantrine

Molécule	CI 50	
	moyenne géométrique	intervalles de confiance (95%)
Artéméther	1,8	1,4-2,4
Chloroquine	102	77-136
Quinine	304	255-363
Méfloquine	5,1	4,2-6,1
Halofantrine	0,8	0,6-1

La CI50 de l'artéméther se situe entre celles de l'halofantrine et de la méfloquine;

25 isolats (64%) sont résistants à la chloroquine; aucune résistance aux autres antipaludiques n'a été observée.

(1) O.C.E.A.C., Yaoundé, Cameroun.

(2) Centrale Diocésaine des Oeuvres, Yaoundé, Cameroun.

(3) Hôpital Central de Yaoundé, Cameroun.

Tableau II: Comparaison de la sensibilité à l'artéméther, la quinine, la méfloquine et l'halofantrine de 14 isolats de Plasmodium falciparum chloroquino-sensibles et de 25 isolats chloroquino-résistants.

	Moyenne géométrique des CI50 en nM (intervalles de confiance 95%)	
	Isolats chloroquino-sensibles	Isolats chloroquino-résistants
Chloroquine	38 (27-54)	178 (153-207) p= 0,0001
Artéméther	2,5 (1,4-4,5)	1,5 (1,1-2,1) NS
Quinine	232 (175-307)	354 (285-440) p =0,007
Méfloquine	4,8 (3,2-7,3)	5,2 (4,3-6,3) NS
Halofantrine	0,9 (0,5-1,5)	0,7 (0,6-0,9) NS

Le tableau III précise les corrélations entre les divers antipaludiques.

Tableau III: Corrélations entre les sensibilités in vitro de Plasmodium falciparum à 5 antipaludiques

molécules	r'	p
artéméther-chloroquine	- 0,13	NS
artéméther-quinine	0,19	NS
artéméther-méfloquine	0,51	0,001
artéméther-halofantrine	0,49	0,003
chloroquine-quinine	0,52	0,002
chloroquine-méfloquine	0,16	NS
chloroquine-halofantrine	- 0,11	NS
quinine-méfloquine	0,50	0,002
quinine-halofantrine	0,38	0,02
méfloquine-halofantrine	0,71	0,0001

DISCUSSION:

Le taux de 64% de chloroquino-résistance *in vitro* est conforme à ce qui est habituellement observé dans la région (6). Il n'a évidemment aucun rapport avec la chloroquino-résistance *in vivo* qui reste très faible au Cameroun (7, 8, 9), inférieure à 10% dans la plupart des cas.

On ne connaît pas encore la CI50 seuil au delà de laquelle une souche plasmodiale serait définie comme résistante à l'artéméther. Les CI50 observées à Yaoundé sont très basses, de l'ordre de 2 nM, intermédiaires entre celles de l'halofantrine (0,8 nM) et de la méfloquine (5,1) et très nettement inférieures à celles des amino-4-quinoléines et de la quinine. Ces éléments sont en faveur d'une très grande sensibilité de *Plasmodium falciparum* à l'artéméther à Yaoundé.

L'étude des corrélations entre les antipaludiques montre une corrélation positive entre chloroquine et quinine et entre méfloquine et halofantrine. Ces données étaient déjà bien connues (10, 11).

Il y a également une corrélation positive entre quinine et méfloquine et quinine et halofantrine, ce qui est plus controversé.

Pour ce qui est de l'artéméther, aucune corrélation n'est trouvée avec la chloroquine ou la quinine, mais une corrélation positive est mise en évidence avec la méfloquine et l'halofantrine: ceci signifie qu'il y a un risque important de résistances croisées entre ces deux molécules et l'artéméther. Une observation semblable avait été faite pour l'artémisinine, autre dérivé du qinghao (10, 11).

CONCLUSION:

L'étude conduite à Yaoundé en 1993 est en faveur d'une bonne activité de l'artéméther sur les isolats de *Plasmodium falciparum*.

Il faut cependant craindre, comme pour d'autres antipaludiques dérivés du qinghao, une résistance croisée avec la méfloquine et l'halofantrine: il convient d'être vigilant, d'autant que l'on a décrit une zone, qui va de l'Afrique de l'Ouest à l'Afrique Centrale sahéliennes, caractérisée par un taux important d'isolats de *Plasmodium falciparum* résistants à la méfloquine (12). Des études complémentaires doivent être menées en ce sens.

BIBLIOGRAPHIE:

1. HIEN TT, WHITE NJ: Qinghaosu. *Lancet*, 1993, 341: 603-608.
2. TAYLOR TE, WILLSWA, KAZEMBEP, CHISALE M, WIRIMA JJ, RATSMA EYEC, MOLYNEUX ME: Rapid coma resolution with artemether in Malawian children with cerebral malaria. *Lancet*, 1993, 341: 661-662.

- 3 WALKER O, SALAKO LA, OMOKHODION SI, SOWUNMI A: An open randomized comparative study of intramuscular artemether and intravenous quinine in cerebral malaria in children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1993, 87, 564-566.
- 4 BASCO LK, LE BRAS J: *In vitro* activity of artemisinin derivatives against african isolates and clones of *Plasmodium falciparum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1993, 49, 301-307.
- 5 LE BRAS J, DELORON P: *In vitro* study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: an evaluation of a new semi-microtest. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1983, 32, 447-451.
- 6 BICKII J, RINGWALD P, LOUIS FJ: Sensibilité *in vitro* de *Plasmodium falciparum* à quatre antipaludiques (chloroquine, quinine, méfloquine, halofantrine) en 1993 à Yaoundé, Cameroun. Doc. OCEAC n° 859/OCEAC/BIO, décembre 1993.
- 7 ROUET F, RINGWALD P, FOUMANE V, NYOLO B, CHAMBON R, LOUIS FJ: Sensibilité *in vivo* aux amino-4-quinoléines des souches de *Plasmodium falciparum* à Limbé, département du Fako, province du Sud-Ouest, Cameroun (25/04-03/05/1993). Doc. OCEAC n° 855/OCEAC/BIO, septembre 1993.
- 8 RINGWALD P, MULDER B, ROUET F, ARENS T, FOUMANE V, NYOLO B, FOLEKEUP, LOUIS FJ: Sensibilité *in vivo* des isolats de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine à Edéa, département de la Sanaga Maritime, province du Littoral, Cameroun (04-11/05/1993). Doc. OCEAC n° 866/OCEAC/BIO, février 1994.
- 9 LOUIS FJ, CHAMBON R, RINGWALD P, MVONDO JL, KOTE A, NYOLO B, NYABAM R, FOUMANE V: Sensibilité *in vivo* aux amino-4-quinoléines des isolats de *Plasmodium falciparum* à Batouri, département de la Kadey, province de l'Est, Cameroun (décembre 1993). Doc. OCEAC n° 867/OCEAC/BIO, février 1994.
- 10 LE BRAS J, BASCO LK, CHARMOT G: Les bases de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* et ses différents porofils. *Cahiers Santé*, 1993, 3, 293-301.
- 11 DOURY JC, RINGWALD P, GUELAIN J, LE BRAS J: Susceptibility of African isolates of *Plasmodium falciparum* to artemisinin (qinghaosu). *Trop. Med. Parasitol.*, 1992, 43, 197-198.
- 12 BRASSEUR P, KOUAMOUCO J, MOYOU-SOMOR, DRUILHE P: Multi-drug resistant *falciparum* malaria in Cameroon in 1987-1988. II. Mefloquine resistance confirmed *in vivo* and *in vitro* and its correlation with quinine resistance. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1992, 46, 8-14.