

AP07

**ETUDE COMPARATIVE DE LA SENSIBILITE
IN VIVO ET IN VITRO
DE PLASMODIUM FALCIPARUM
A LA CHLOROQUINE ET A L'AMODIAQUINE
EN AFRIQUE CENTRALE.**

P. BRASSEUR (1), P. AGNAMEY (1), A. SAME EKOB (2),
G. SAMBA (3), L. FAVENNEC (1), J. KOUAMOU (4).

(1) Laboratoire de Parasitologie, C.H.U. Rouen, France,

(2) C.H.U. de Yaoundé, Cameroun,

(3) Médecine Préventive, Brazzaville, Congo,

(4) Laboratoire de Biologie, Bangangte, Cameroun.

Une étude multicentrique a été conduite en 1991 et 1992 en Afrique centrale, au Cameroun et au Congo chez 123 malades présentant un accès de paludisme non compliqué à *Plasmodium falciparum* pour comparer l'efficacité du traitement par l'amodiaquine à la dose de 35 mg/kg sur trois jours et celle de la chloroquine à la dose de 25 mg/kg sur trois jours, selon le protocole recommandé par l'Organisation Mondiale de la Santé pour le traitement du paludisme des malades semi-immuns. L'amodiaquine s'est montrée plus efficace avec une clairance parasitaire 7 jours après le début du traitement de 79,7 % contre 59,4 % pour la chloroquine et une disparition plus rapide de l'hyperthermie. Les tests de sensibilité *in vitro* effectués sur 32 isolats de *Plasmodium falciparum* montraient que 50 % d'entre eux étaient résistants à la chloroquine et 9 % seulement à l'amodiaquine. Les seuls effets secondaires observés étaient du prurit et des nausées chez 5,3 % et 18,7 % respectivement des malades traités par l'amodiaquine et chez 15,7 % et 5 % de ceux traités par la chloroquine.

Ces résultats montrent que l'amodiaquine qui reste un antimalarique de faible coût pourrait être proposé en Afrique centrale dans les régions de chloroquinorésistance pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué avant d'envisager des alternatives plus coûteuses.

AP08

**TRAITEMENT ORAL
DES ACCES PALUSTRES SIMPLES
PAR LA QUININE.
COMPARAISON DES CURES DE 3 ET 7 JOURS.**

C. ROGIER, R. BRAU, A. TALL, B. CISSE, J-F. TRAPE.

Institut Pasteur, Dakar, Sénégal,
ORSTOM, Dakar, Sénégal.

En cas de résistance de *Plasmodium falciparum* aux amino-4-quinoléines et à la sulfadoxine-pyriméthamine, le traitement oral des accès palustres simples par la quinine peut avoir un intérêt en zone de forte endémie. La cure classique de 7 jours est cependant astreignante, relativement onéreuse et entraîne des effets secondaires (cinchonisme). Pour améliorer l'acceptabilité de ce traitement, nous avons comparé l'efficacité d'une cure courte de 3 jours par 25 mg/kg/jour de Quinimax (association de quinine, quinine et cinchonine) à celle d'une cure de 7 jours au cours d'un essai thérapeutique randomisé portant sur 462 accès palustres simples à *Plasmodium falciparum* chez 72 enfants âgés de moins de 10 ans. Le délai médian de guérison clinique a été de 13 heures (intervalle inter quartile 25 % - 75 % : 8 - 22 heures, maximum 94 heures). La fréquence de guérison clinique avant la douzième heure était équivalente au cours de la cure de 3 jours (39,4 %) et au cours de la cure de 7 jours (39,3 %). La fréquence de guérison parasitologique (parasitémie non détectable à l'examen de 200 champs microscopiques, soit 0,5 microlitre) entre le sixième et le dixième jour après le début du traitement était significativement plus importante au cours de la cure de 7 jours (97,5 %) qu'au cours de la cure de 3 jours (48,1 %) et après la cure de 7 jours (47,0 %). On n'augmente donc pas l'incidence des nouveaux accès en les traitant oralement par la quinine en 3 jours plutôt qu'en 7 jours, même chez les enfants les plus jeunes.

AP09

**APPORT DE LA PCR AU DIAGNOSTIC
DE LA RESISTANCE
DE PLASMODIUM FALCIPARUM
AUX ANTIMETABOLITES.**

P. GERARD, B. PRADINES, D. PARZY.

Unité d'Immunochimie et de Génétique Parasitaire
Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des
Armées, Le Pharo, Marseille, France.

Le proguanil (dont le métabolite actif est le cycloguanil) et la pyriméthamine sont deux antimétabolites utilisés de longue date en chimioprophylaxie antipalustre. Ils agissent sur la voie de biosynthèse de l'acide folique en inhibant la dihydrofolate réductase (DHFR) qui se présente chez *Plasmodium falciparum* comme un enzyme bifonctionnel avec une activité associée thymidylate synthétase. Le gène codant pour cet enzyme est situé sur le chromosome 4. Il a été montré, sur des souches de référence et quelques isolats, que la résistance à ces antimétabolites était liée à des mutations ponctuelles au niveau de ce gène.

Au niveau du codon 108, la mutation AGC (sérine) par AAC (asparagine) induit une résistance à la pyriméthamine et une baisse de sensibilité au cycloguanil. Une mutation du codon 108 [AGC (sérine) → ACC (thréonine)] associée à une mutation du codon 16 [GCA (alanine) → GTA (valine)] est liée à une résistance au cycloguanil. Une mutation sur le codon 164 [ATA (isoleucine) → TTA (leucine)], associée à des mutations sur le codon 108 [AGC (sérine) → AAC (asparagine)] et sur le codon 59 [TGT (cystéine) → CGT (arginine)] entraîne une résistance croisée au cycloguanil et à la pyriméthamine.

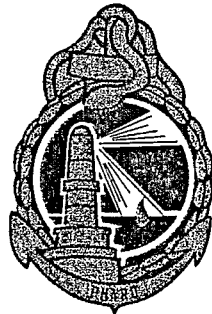
En raison des contraintes liées au test par culture (parasitémie - viabilité des parasites - conditions de transport), nous avons adapté une méthode de détection des mutations par technique de double PCR. L'ADN plasmodial est isolé à partir d'échantillons de sang recueillis sur ACD ou EDTA. La première PCR permet l'amplification de 697 bases sur les 732 codant pour le domaine DHFR du gène. Cette réaction est rendue spécifique de *Plasmodium falciparum* par l'utilisation d'amorces hybridant dans des régions présentant peu d'homologie avec les gènes DHFR d'autres espèces. Elle permet aussi d'augmenter la sensibilité de la seconde PCR, de détection des mutations, qui est réalisée sur un aliquote du produit d'amplification précédent. Cette deuxième PCR nécessite l'utilisation d'un jeu d'amorces différentes, présentant au niveau de la dernière base en 3' soit la base présente sur le gène sauvage, soit la base mutée. Son principe est basé sur la déstabilisation, dans des conditions réactionnelles stringentes, des hybrides non appariés par opposition à ceux qui sont parfaitement complémentaires. Pour le dépistage de chaque codon muté, il faut donc réaliser N+1 réactions d'amplification différentes, N correspondant au nombre de mutations potentielles de chaque codon. Les mutations sont identifiées sur la présence des différents produits d'amplification après migration en gel d'agarose. Pour chaque échantillon sanguin, huit PCR sont actuellement réalisées avec huit paires d'amorces différentes, permettant l'étude des codons 16, 108 et 164. Les résultats sont rapprochés de ceux fournis par le semi-microtest, pris comme méthode de référence, pour les parasitémies supérieures à 0,04% (limite de sensibilité de ce test). Pour des parasitémies inférieures à 0,04%, cette comparaison est impossible. La sensibilité de la technique PCR est actuellement d'environ 0,005% d'hématies parasitées. Les résultats préliminaires, qui portent sur deux clones, une souche et trente isolats de patients provenant de différentes régions d'Afrique, confirment pour une part les données de la littérature. Pour trois isolats, la seule mutation du codon 108 (sérine → asparagine) est cependant liée à une forte résistance au cycloguanil. Nous n'identifions jamais de mutation du codon 164. Dans quatre isolats, une double population est observée par technique PCR : sur les trois tests effectués en culture, l'un apparaît comme sensible et deux présentent une sensibilité intermédiaire.

Des travaux complémentaires sont nécessaires afin de confirmer ces premiers résultats et pour déterminer le rôle et la fréquence d'autres mutations décrites au niveau des codons 51 et 59.



LOTÉ = PM 300
MODAC = DA FRA

Institut de Médecine Tropicale
du Service de Santé des Armées
Le Pharo - Marseille



ISSN = 3

Année 1995
Volume 55
Numéro 3 Supplément

DEUXIEMES ACTUALITES DU PHARO ET DE L'HOPITAL LAVERAN

COMPTÉ-RENDU DES TRAVAUX PRÉSENTÉS

MARSEILLE - 8 SEPTEMBRE 1995

LES THÉRAPEUTIQUES ANTIPARASITAIRES
COMMUNICATIONS LIBRES EN MÉDECINE TROPICALE

COMITÉ D'ORGANISATION
GRAS, N. HASSELOT, P. JEANDEL

PM 300