



WORLD HEALTH ORGANIZATION

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ



VOIR CORR. 1

WHO/MAL/84.1014

FRANCAIS SEULEMENT

(with English summary)

a 66629

RESISTANCE MEDICAMENTEUSE DE PLASMODIUM FALCIPARUM AU BURUNDI (AFRIQUE CENTRALE)^{1,2}

par

M. H. Coosemans,³ L. Hendrix,⁴ M. Barutwanayo,⁵ G. Butoyi⁶ et E. Onori⁷

Table des matières

	<u>Pages</u>
1. Introduction	2
2. Matériel et méthodes	2
2.1 Echantillonnage	2
2.2 Epreuve <u>in vivo</u>	2
2.3 Epreuve <u>in vitro</u>	3
3. Résultats	3
3.1 Epreuve <u>in vivo</u>	3
3.2 Epreuve <u>in vitro</u>	4
4. Discussion	4
5. Résumé	6
Remerciements	7
Summary	8
Références bibliographiques	9
Tableaux	10
Figures	15

¹ Etude entreprise dans le cadre de la Mission d'assainissement de la plaine de la Ruzizi, B.P. 337, Bujumbura, Burundi.

² Cette étude a bénéficié d'un appui financier du Groupe de recherche appliquée sur le paludisme du Programme spécial PNUD/Banque mondiale/OMS de recherche et de formation concernant les maladies tropicales; ainsi que du Fonds médical tropical belge (FOMETRO).

³ Responsable du programme de lutte contre le paludisme; Assistant au Laboratoire de Protozoologie, Institut de Médecine tropicale Prince Léopold, Anvers, Belgique; Coopérant belge (AGCD) au Ministère de la Santé publique du Burundi.

⁴ Technicien au Laboratoire de Protozoologie, Institut de Médecine tropicale Prince Léopold, Anvers, Belgique.

⁵ Biologiste, Ministère de la Santé publique du Burundi.

⁶ Technicien, Ministère de la Santé publique du Burundi.

⁷ Médecin responsable, Méthodologie et évaluation épidémiologiques, Programme d'action antipaludique, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.

The issue of this document does not constitute formal publication. It should not be reviewed, abstracted or quoted without the agreement of the World Health Organization. Authors alone are responsible for views expressed in signed articles.

Ce document ne constitue pas une publication. Il ne doit faire l'objet d'aucun compte rendu ou résumé ni d'aucune citation sans l'autorisation de l'Organisation mondiale de la Santé. Les opinions exprimées dans les articles signés n'engagent que

1. INTRODUCTION

Les souches de *Plasmodium falciparum* résistantes à la chloroquine ont fait leur apparition sur le continent africain en 1978, d'abord au Kenya et en Tanzanie, puis à Madagascar, aux îles Comores, en Zambie et au Soudan (Wéry & Coosemans, 1980; Centres for Disease Control, 1983; Kofi Ekue et al., 1983). L'Afrique de l'Ouest ne semble pas être épargnée, mais les observations faites au Gabon (Burchard et al., 1984) demandent de plus amples investigations (Onori, 1984).

Des cas isolés ont été signalés au Rwanda (Mafart et al., 1981) et dans la province de Kivu au Zaïre (Delacollette et al., 1983).

En 1981, trois cas ont été démontrés au Burundi à l'aide de l'épreuve macrotechnique in vitro.¹ A cette même époque, des cas sporadiques de résistance ont été observés en milieu hospitalier, et de telles observations se sont multipliées en 1983. Une étude plus systématique a été entreprise en 1983 afin de déterminer l'ampleur de la résistance à la chloroquine et d'étudier des schémas thérapeutiques de remplacement.

2. MATERIEL ET METHODES

Le paludisme est endémique dans la région de l'Imbo, région basse du Burundi (<1000 m) bordant au sud le lac Tanganyika et formant au nord la plaine de la Ruzizi. *Anopheles arabiensis*, l'anophèle prédominant, est un vecteur dont la capacité vectorielle est relativement faible (l'indice sporozoïtique dépassant rarement 0,50 %); cependant il abonde en présence de riziculture, ce qui entraîne une hyperendémicité (indice parasitaire de 50 % chez les groupes d'âge de 0 à 20 ans). Ailleurs le paludisme est hypo- ou méso-endémique du type instable, caractérisé par une population à faible prémunition. L'incidence (estimée à partir d'enquêtes parasitologiques longitudinales chez les enfants de moins de cinq ans) atteint un taux maximum en fin de saison des pluies (à Gihanga au mois de juin 1982, le taux était de $h = 0,0268$) et est relativement faible d'octobre à janvier (taux de 0,005 en 1982-83)² (Coosemans et al., 1984).

2.1 Echantillonnage

Des enfants ont été examinés dans trois écoles de la plaine de la Ruzizi situées à proximité des rizières (écoles de Gihanga, Maramvya et Mpanda). Les écoliers présentant une densité parasitaire de 100 trophozoïtes/mm³ de sang, ou plus, ont été sélectionnés pour l'épreuve in vivo. Les infections mixtes ont été écartées. Les enfants ne présentaient pas de symptômes cliniques particuliers.

Un autre échantillon a été obtenu dans deux dispensaires : celui de Ninga, région rizicole, et celui de la ville de Bujumbura.

Une goutte épaisse était examinée chez les malades suspectés de paludisme.

2.2 Epreuve in vivo

Dans les écoles, deux types de traitement étaient d'abord envisagés :

- 10 mg de chloroquine (base) par kg de poids corporel administrés en dose unique;
- 25 mg de chloroquine (base) par kg répartis sur 3 jours (10 mg, 10 mg, 5 mg/kg).

¹ Coosemans, M. H. (1982) Rapport d'activités et résultats préliminaires. Projet : Etude épidémiologique du paludisme. Mission d'assainissement de la plaine de la Ruzizi, Ministère de la Santé publique, Burundi, p. 45.

² Coosemans, M. H. et al. (1983) Recherche épidémiologique d'un paludisme peu stable en Afrique centrale : prospection géographique dans la plaine de la Ruzizi (République du Burundi). Communication présentée à la 2^e Conférence internationale sur le paludisme et les babésioses, 19-22 septembre 1983. Annecy, France.

Une deuxième série d'épreuves visait à évaluer les traitements prolongés à la chloroquine :

- 35 mg (10 mg, 10 mg, 5 mg, 5 mg, 5 mg/kg) administrés en 5 jours.
- 50 mg/kg (5 x 10 mg/kg) administrés en 5 jours.
- 40 mg/kg (4 x 10 mg/kg) administrés en 4 jours.

Les comprimés étaient avalés en présence des auteurs.

La chloroquine a été recherchée dans les urines, avant le traitement et pendant les 4 jours suivant le traitement, par la méthode de Dill et Glazko (Lelijveld & Kortman, 1970). Une goutte épaisse et un frottis ont été préparés chaque jour au cours des 6 à 7 premiers jours suivant le début du traitement. Des examens de sang ont été effectués ultérieurement dans certaines écoles.

Le comptage des formes asexuées de *P. falciparum* a été effectué par rapport à 2000 leucocytes, la densité parasitaire étant exprimé par mm^3 de sang (8000 leucocytes/ mm^3).

2.3 Epreuve in vitro

La sensibilité des isolats a été mesurée in vitro à l'aide de la microtechnique décrite par Rieckmann et al. (1978). Le pouvoir de maturation des isolats a ainsi pu être évalué en présence de 4 médicaments : chloroquine, amodiaquine, quinine, méfloquine (trousse OMS).

3. RESULTATS

3.1 Epreuve in vivo

L'effet de la dose unique de 10 mg de chloroquine par kg de poids corporel a été évalué chez 60 écoliers âgés de 7 et 16 ans (tableau 1).

Au jour 3 après le traitement, 38 % (23/60) sont toujours positifs et 32 % (19/60) au jour 6. L'épreuve n'a pas pu être poursuivie au-delà du sixième jour dans l'école de Gihanga. Parmi les écoliers de Maramvya sous traitement (10 mg/kg), 44 % (11/25) sont positifs au jour 7 et 64 % au jour 15 (16/25).

L'évolution des moyennes géométriques des densités parasitaires était similaire dans les deux écoles (Fig.1).

Le traitement avec 25 mg/kg répartis sur 3 jours a été appliqué dans deux dispensaires et deux écoles (tableau 1, Fig.1). Selon l'usage, le premier jour du traitement est désigné comme jour 0. Au jour 3, 61 % (17/28) des malades des dispensaires ne répondent toujours pas de manière radicale, contre 40 % (21/52) chez les écoliers. Au jour 7, 55 % (12/22) d'échecs sont rencontrés au niveau des dispensaires, contre 27 % (14/52) dans les écoles. Au jour 15, 49 % (25/51) des écoliers sont positifs. Des 21 écoliers positifs au jour 3, 20 sont positifs au jour 14 dont 10 l'étaient déjà au jour 7.

Plusieurs traitements prolongés (4 à 5 jours) à la chloroquine ont été entrepris à l'école de Mpanda (décembre 1983). Au départ, seulement deux types de traitements étaient envisagés : 35 mg/kg et 50 mg/kg étalés sur 5 jours. Les médicaments étaient administrés sous supervision médicale.

Dans le deuxième groupe (50 mg/kg), environ la moitié des enfants se sont plaints de vertiges et de maux aux yeux au jour 3 du traitement. Le traitement de ces derniers a été suspendu le jour même (40 mg/kg en 4 jours), les autres ont poursuivi leur traitement jusqu'au jour 4 (50 mg/kg en 5 jours). Ces effets secondaires modérés de la chloroquine ont entièrement disparu 48 heures après la fin de l'administration du médicament.

Au jour 7, seul un enfant était positif dans le groupe recevant 35 mg/kg. Au jour 14, 31 % (7/22) présentaient des trophozoïtes de P. falciparum dans le sang, contre 9 % (2/21) pour les traitements à des doses plus élevées. Au jour 20, les parasites sont réapparus plus nombreux dans le groupe à 40 mg que dans le groupe à 50 mg/kg (tableau 2, Fig. 1).

3.2 Epreuve in vitro

Dans de nombreux cas la maturation n'a pu se faire in vitro avec une première série d'isolats en utilisant un milieu de culture composé de Hepes et de bicarbonate de soude déjà conditionnés. De bons résultats ont été obtenus par la suite, en utilisant ces deux mêmes composantes, mais fraîchement préparées. Les résultats repris dans le présent document ont été obtenus en présence de ces deux composantes préparées dans les 48 heures précédant leur utilisation.

Sur la même plaque, il y avait en même temps des godets témoins présentant une bonne maturation et d'autres sans aucune schizogonie, et cela parfois pour des densités parasitaires élevées. Seuls 22 des 47 isolats prélevés avaient plus de 20 schizontes dans les témoins pour 200 formes asexuées de P. falciparum.

Les épreuves réussies pour la chloroquine l'étaient également pour les autres médicaments. Les moyennes géométriques des titres d'anticorps immunofluorescents étaient semblables chez les personnes dont les isolats présentaient une bonne maturation et chez celles dont les isolats étaient à maturation faible ou absente (respectivement 1/82 et 1/103). Par contre, les densités parasitaires étaient différentes (moyennes géométriques respectives de 2844 et 1157/mm³).

Le nombre d'isolats présentant une schizogonie est indiqué dans le tableau 3, par concentration et pour chaque médicament. La présence de schizontes rares mais bien différenciés est observée surtout avec la chloroquine et la méfloquine.

Une maturation in vitro de P. falciparum à $1,14 \times 10^{-6}$ M de chloroquine par litre de sang indique la présence de souches résistantes. Pour l'amodiaquine, le point de repère se situe certainement au-dessous de ce niveau.

Pour la chloroquine 16 isolats sur 22 (73 %) sont résistants. Par contre, 1/14 montre une maturation à $1,14 \times 10^{-6}$ M d'amodiaquine (7 %). Les résultats pour la méfloquine et la quinine sont satisfaisants, compte tenu de l'introduction récente de ces épreuves et par rapport aux autres observations jusqu'ici peu nombreuses. Le tableau 4 donne le nombre cumulé de schizontes par concentration pour 200 formes asexuées.

Sur 10 isolats, 8 étaient résistants à la chloroquine in vitro, et sur ces 8, 6 étaient résistants in vivo au traitement avec 25 mg/kg (tableau 5), tandis que 2 ont bien répondu au traitement mais n'ont pu être suivis que pendant 15 jours. Les 2 isolats sensibles in vitro ont répondu au traitement.

4. DISCUSSION

Les résultats des épreuves in vivo montrent la faible efficacité du traitement à dose unique de chloroquine (10 mg/kg). Le traitement à 25 mg/kg répartis sur trois jours n'a pas permis d'éliminer les parasites asexués au jour 7 chez 35 % des personnes. Notons que la persistance des trophozoïtes jusqu'au jour 7 est plus importante chez les malades des dispensaires (55 %) que chez les écoliers asymptomatiques (27 %). Cette différence entre ces deux groupes apparaît également au niveau de l'évolution des densités parasitaires (fig. 1) et pourrait s'expliquer par une réponse immunitaire déficiente chez les personnes qui, ayant traité elles-mêmes leurs fièvres à la chloroquine, ne viennent au dispensaire que lorsque l'effet escompté n'a pas été obtenu et après des recrudescences.

Chez les écoliers, 50 % des recrudescences se sont manifestées au jour 15. Les réinfections sont toujours possibles mais c'est à Bujumbura, zone hypo-endémique, qu'apparaît le plus grand nombre de positifs au jour 7. Rappelons d'autre part que le taux d'incidence à proximité des rizières est relativement bas d'octobre à janvier (réinfection en moyenne tous les 100 à 200 jours chez les enfants de moins de 5 ans, contre 37 jours au mois de juin).

En présence de traitements prolongés à la chloroquine (35, 40 et 50 mg/kg), les parasites réapparaissent au-delà de la période d'observation des 7 jours d'autant plus rapidement que la dose est plus faible. Bien qu'ici aussi, il ne soit pas possible d'exclure le risque de réinfection, c'est également chez les individus chez qui les parasites ont été éliminés avec le plus de difficulté au début du traitement que sont apparues le plus grand nombre de recrudescences. Cependant, le nombre de positifs (2/22) au jour 3 dans le groupe recevant 35 mg/kg était nettement inférieur à celui observé dans le groupe recevant 25 mg/kg (21/52) au moment où les deux groupes avaient absorbé la même dose de chloroquine. Il n'est donc pas exclu que la proportion de souches résistantes était moins importante à Gihanga (35 mg/kg) qu'à Maramvya (25 mg/kg). D'autre part, l'évolution des moyennes géométriques des densités parasitaires dans les deux groupes précités était semblable (fig. 1).

On peut conclure, malgré l'apparence d'un taux de guérison accru en augmentant les doses de chloroquine, que les recrudescences retardées (après le jour 7) sont fréquentes. Cela semblerait indiquer que les doses plus importantes de chloroquine favoriseraient encore davantage la sélection de parasites résistants. Ces traitements prolongés ne peuvent donc être recommandés.

Les fortes résistances observées in vivo sont confirmées par les épreuves in vitro qui mesurent la sensibilité des isolats en écartant les interactions immunitaires - humorales - de l'hôte. Ainsi, 16 isolats sur 22 sont résistants à la chloroquine (maturation à $1,14 \times 10^{-6}M$).

Cette résistance à la chloroquine observée au Burundi est nettement plus importante que celles observées par Onori et al. (1982) à Mto-wa-Mbu et par Draper et al. (1984) à Shirati en Tanzanie, et moins constante que celle observée par Schwarz et al. (1983) à Zanzibar (fig. 2).

La concentration efficace à 50 % (CE₅₀) pour les isolats du Burundi ($0,723 \times 10^{-6}M$ chloroquine) est presque du même ordre que la CE₅₀ pour les isolats de Zanzibar ($0,995 \times 10^{-6}M$), la valeur la plus élevée observée à ce jour en Afrique.

La pente relativement faible (2,1611) de la régression log-probit indique une hétérogénéité assez importante du degré de sensibilité des souches de P. falciparum à la chloroquine.

En 1970, 5 mg de chloroquine (base) suffisait en Tanzanie pour éliminer les parasites du sang (Onori et al., 1982). Bien qu'il n'y ait pas de renseignements sur ce sujet pour le Burundi, il y a lieu de penser que la situation y était identique. En effet, la dose unique de 10 mg/kg donnait à cette époque de bons résultats cliniques. C'est en 1981 que des cas sporadiques de P. falciparum résistants à la chloroquine sont apparus.

En 1983, la situation s'est rapidement dégradée. En effet, ces souches résistantes à la chloroquine semblent avoir trouvé un terrain propice à leur développement : le manque de prémunition de la population et une pression médicamenteuse importante en l'absence de mesures efficaces dirigées contre la transmission du paludisme sont deux facteurs favorisant la dispersion de ces souches.

En dehors des zones irriguées pour la riziculture, le paludisme est hypo- à méso-endémique et par conséquent la prémunition de la population est faible. De plus, la riziculture attire de la main-d'oeuvre venant des collines souvent indemnes de paludisme.

Une pression médicamenteuse importante est exercée depuis les années 1950 par des campagnes de chimioprophylaxie avec la chloroquine et la pyriméthamine (Daraclor), visant toute la population des villages à riziculture et les écoliers dans la région de l'Imbo.

Le fait que la chloroquine soit facile à obtenir et qu'elle soit d'un coût peu élevé a favorisé l'automédication, chose encourageante en soi si les doses appliquées sont correctes et tant que n'apparaissait pas la pharmacorésistance sur le continent africain.

La forte prévalence de souches résistantes a considérablement diminué l'intérêt d'une chimioprophylaxie à la chloroquine, d'autant plus que ces faibles posologies risquent de sélectionner encore davantage les souches résistantes.

Le traitement à dose unique doit être abandonné au profit du traitement à 25 mg/kg en trois jours, en utilisant de préférence l'amodiaquine.

Les cas ne répondant pas à ce traitement doivent être traités avec un antipaludique de deuxième ligne (sulfadoxine/pyriméthamine ou les combinaisons amodiaquine/sulfadoxine/pyriméthamine ou quinine/tétracyclines).

Les traitements prolongés à la chloroquine ne peuvent être recommandés au niveau du dispensaire, car ils sont trop longs et difficiles à appliquer. De plus, les formes résistantes font leur apparition plus tardivement et échapperaient, par conséquent, au contrôle des services de soins curatifs. Dans cette étude, les écoliers se sont plaints de vertiges et de maux aux yeux à la suite de ces traitements. Ces effets secondaires, mineurs, ont disparu 48 heures après la fin du traitement. En milieu hospitalier où la dose de 50 mg/kg de chloroquine est appliquée depuis plus d'un an, peu d'effets secondaires ont été enregistrés (De Moegd, comm. pers).

Concernant les médicaments de deuxième ligne (sulfadoxine/pyriméthamine, quinine/tétracyclines), il faut souligner que de rares cas de résistance à la combinaison sulfadoxine/pyriméthamine (Fansidar) ont été observés au Burundi et ailleurs en Afrique (Stahel et al., 1982), ce qui doit inciter à une utilisation rationnelle de ce médicament.

En ce qui concerne l'amodiaquine, la CE_{50} de $0,0957 \times 10^{-6} M$ pour ce médicament montre que les souches de P. falciparum au Burundi sont nettement plus sensibles que celles à Zanzibar ($CE_{50} = 0,938 \times 10^{-6} M$) où les échecs in vivo sont nombreux (Campbell et al., 1983). Ce médicament pourrait remplacer avantageusement la chloroquine comme antipaludique de première ligne (25 mg/kg). Cependant, une évaluation in vivo s'impose, et la situation peut se modifier très rapidement.

La CE_{99} pour la quinine a été évaluée à $6,167 \times 10^{-6} M$ et celle pour la méfloquine à $1,096 \times 10^{-6} M$. Ces deux valeurs indiquent une totale sensibilité et une réponse in vivo satisfaisante aux posologies normales pour ces médicaments.

Cependant, dans d'autres régions du globe, il existerait une certaine association entre la résistance à la chloroquine et celle à la quinine (Bruce-Chwatt et al., 1981). Trop souvent, ce dernier médicament est utilisé à des doses trop faibles. Il serait important de promouvoir l'usage correct de la quinine : l'administration en 3 prises de la dose quotidienne de 30 mg/kg durant un minimum de 5 à 7 jours.

5. RESUME

L'efficacité de plusieurs traitements à la chloroquine contre le paludisme à Plasmodium falciparum a été étudiée in vivo à Bujumbura et dans la plaine de la Ruzizi, partie basse du Burundi. La sensibilité in vitro, suivant la microtechnique de Rieckmann, a été mesurée en présence de la chloroquine, de l'amodiaquine, de la quinine, et de la méfloquine.

Avec la dose unique de chloroquine (10 mg base/kg), 44 % des écoliers impaludés étaient positifs au jour 7 et 64 % au jour 15 (école de Maramvya) après le traitement.

Un suivi parasitologique a été entrepris auprès de 74 sujets ayant reçu le traitement standard à la chloroquine (25 mg base/kg en trois jours). Au jour 7, 26 (35 %) des impaludés n'ont pas répondu au traitement; ces échecs ont été plus importants chez les 22 malades se présentant aux dispensaires (55 %) que chez les 52 écoliers asymptomatiques (27 %). Parmi les écoliers qui étaient positifs au jour 7, 9 (64 %) étaient résistants au niveau RI et 5 (36 %) au niveau RII, tandis que chez les malades se présentant aux dispensaires, 5 étaient résistants au niveau RI (42 %) et 7 au niveau RII (58 %). Dans le groupe des écoliers, un écolier sur deux a été trouvé positif au jour 15.

Des traitements prolongés à la chloroquine durant 4 à 5 jours (35 mg/kg, 40 mg/kg, 50 mg/kg) ont eu pour seul effet de retarder les recrudescences au-delà de la période d'observation des 7 jours, ceci d'autant plus vite que les doses étaient moindres.

Sur 32 isolats étudiés in vitro, 16 se sont révélés résistants à la chloroquine (concentration efficace à 50 % = $0,723 \times 10^{-6}M$).

L'extension récente des souches de P. falciparum résistantes à la chloroquine s'explique par une prémunition relativement faible de la population et une pression médicamenteuse très importante.

Des études in vitro ayant montré une sensibilité relativement bonne de P. falciparum à l'amodiaquine (concentration efficace à 50 % = $0,096 \times 10^{-6}M$), on avait pensé que ce médicament pourrait remplacer la chloroquine à la dose de 25 mg de base par kg en 3 jours. Cependant, des études ultérieures ont montré qu'il existait un risque d'extension rapide de la résistance à cette 4-aminoquinoléine.

La dose effective à 50 % était de $1,097 \times 10^{-6}$ pour la quinine et de $0,146 \times 10^{-6}M$ pour la méfloquine. L'usage correct de la quinine est à souligner.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Monsieur le Directeur général du Ministère de la Santé publique du Burundi, le Dr P. Mpitabakana, pour l'intérêt qu'il a bien voulu manifester tout au long de cette étude. Nous remercions également le Dr B. Gryseels, le Professeur L. Eyckmans, le Professeur M. Wéry, le Dr W. H. Wernsdorfer et le Dr S. Goriup qui, par leurs avis et leurs critiques, ont contribué à cette étude.

SUMMARY

DRUG RESISTANCE OF PLASMODIUM FALCIPARUM IN BURUNDI (CENTRAL AFRICA)

Different chloroquine regimens for the treatment of Plasmodium falciparum malaria were evaluated in vivo at Bujumbura and in the Ruzizi Plaine, in the south of Burundi. The sensitivity of P.falciparum to chloroquine, amodiaquine, quinine and mefloquine was also tested in vitro, according to the Rieckmann micro technique.

Following a single dose of chloroquine (10 mg base/kg) 44% of the infected schoolchildren from Maramvya were still positive on day 7 after treatment and 64% on day 15.

Daily microscopic examinations were also carried out on 74 patients who had received the standard chloroquine treatment of 25 mg base/kg in three days. On day 7, 26 (35%) of the patients had not responded to treatment; these failures were more numerous and clinically more important in the 22 patients attending the dispensaries (55%) than in the 52 asymptomatic schoolchildren (27%). Among the children who were positive on day 7, 9 (64%) were resistant at RI level and 5 (36%) at RII level, while among the patients attending the dispensaries 5 (42%) were resistant at RI level and 7 (58%) at RII level. Among the schoolchildren, one out of two were found positive on day 15.

Recrudescences were delayed beyond the observation period of 7 days when increased dosages of chloroquine were given during a period of 4-5 days (35 mg/kg, 40 mg/kg, 50 mg/kg). The period of time elapsed before of parasite reappearance was always closely related to the dosages used: lower dosages were followed by early recrudescences.

Out of 32 isolates studied in vitro 16 showed resistance to chloroquine ($EC_{50} = 0.723 \times 10^{-6}M$).

The rapid spread of P. falciparum chloroquine resistance may be explained by a low immune status of the population combined with an intense drug pressure.

In vivo studies showed a relatively good sensitivity of P. falciparum to amodiaquine and it was originally thought that this drug could replace chloroquine when given at a dosage of 25 mg base/kg in 3 days. However, later studies indicated that there was danger of a rapid selection of resistance towards this 4-aminoquinoline.

EC_{50} s for quinine and mefloquine were $1.097 \times 10^{-6}M$ and $0.146 \times 10^{-6}M$ respectively in the in vitro susceptibility tests.

The correct use of quinine is advocated.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bruce-Chwatt, L. J. et al. (1981) Chemotherapy of malaria. Série de monographies N° 27, 2^e éd., Genève, Organisation mondiale de la Santé, p. 110
2. Burchard, G. D. et al. (1984) Plasmodium falciparum malaria: resistance to chloroquine but sensitivity to mefloquine in the Gabon. A prospective in vitro study. Tropenmedizin und Parasitologie, 35, 1-4
3. Campbell, C. et al. (1983) Evaluation of amodiaquine treatment of chloroquine-resistant Plasmodium falciparum malaria in Zanzibar, 1982. American journal of tropical medicine and hygiene, 32, 1216-1220
4. Centers for Disease Control (1983) Update: chloroquine resistant Plasmodium falciparum - Africa. Morbidity and mortality weekly report (MMWR), 32, 437-438
5. Coosemans, M. et al. (1984) Epidémiologie du paludisme dans la plaine de la Ruzizi, Burundi. Annales de la Société belge de Médecine tropicale, 64, 135-158
6. Delacollette, C. et al. (1983) Response to chloroquine of infections with Plasmodium falciparum in the Kivu region of Zaïre. Preliminary observations. Annales de la Société belge de Médecine tropicale, 63, 171-172
7. Draper, C. C. et al. (1984) Serial studies on the evolution of chloroquine resistance in an area of East Africa receiving intermittent chemosuppression. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, in press
8. Kofi Ekue, J. M. et al. (1983) Plasmodium falciparum malaria resistant to chloroquine in Zambians living in Zambia. British medical journal, 286, 1315-1316
9. Lelijveld, J. & Kortman, H. (1970) The oesin colour test of Dill and Glazko: a simple field test to detect chloroquine in urine. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 42, 477-479
10. Mafart, Y. et al. (1981) Un autre cas de paludisme à Plasmodium falciparum avec résistance à la chloroquine en Afrique (Rwanda). Médecine tropicale, 41, 677-680
11. Onori, E. (1984) The problem of Plasmodium falciparum drug resistance in Africa, South of the Sahara. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 62 (Suppl.), in press
12. Onori, E. et al. (1982) Incipient resistance of Plasmodium falciparum to chloroquine among a semi-immune population of the United Republic of Tanzania. 1. Results of in vivo and in vitro studies and of an ophthalmological survey. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 60, 77-87
13. Rieckmann, K. et al. (1978) Drug sensitivity of Plasmodium falciparum - an in vitro microtechnique. Lancet, i, 22-23
14. Schwartz, I. et al. (1983) In vivo and in vitro assessment of chloroquine resistant Plasmodium falciparum malaria in Zanzibar. Lancet, i, 1003-1005
15. Stahel, E. et al. (1982) Pyrimethamine/sulfadoxine resistant falciparum malaria acquired at Dar-es-Salaam, Tanzania. Lancet, i, 1118-1119
16. Wéry, M. & Coosemans, M. (1980) La résistance médicamenteuse dans le paludisme. Annales de la Société belge de Médecine tropicale, 60, 137-162

TABLEAU 1. SENSIBILITE DE PLASMODIUM FALCIPARUM A LA CHLOROQUINE (EPREUVE IN VIVO)

Réponse à une dose unique de 10 mg/kg de poids corporel

	Ecole de Gihanga Mai 1983		Ecole de Maramvya Octobre 1983	
	Nombre d'enfants		Nombre d'enfants	
	examinés	positifs	examinés	positifs
	Jour 3	35	10	25
Jour 6	35	13	25	6
Jour 7			25	11
Jour 15			25	16

Réponse à une dose totale de 25 mg/kg de poids corporel répartie en 3 jours

	Dispensaire de Ninga Juillet 1983		Dispensaire de Bujumbura Octobre 1983		Ecole de Maramvya Octobre 1983		Ecole de Gihanga Janvier 1984	
	Nombre de malades		Nombre de malades		Nombre d'enfants		Nombre d'enfants	
	examinés	positifs	examinés	positifs	examinés	positifs	examinés	positifs
	Jour 3	10	4	18	13	25	10	27
Jour 7	8	4	14	8	25	4	27	10
Jour 15					25	10	26	15

TABLEAU 2. EFFICACITE DES TRAITEMENTS PROLONGES A LA CHLOROQUINE
(ECOLE DE MPANDA, DECEMBRE 1983)

Traitement chloroquine	J0	J3	J7	J14	J20 ^x	J27 ^x
35 mg/kg (J0 - J4) (10-10-5-5-5 mg/kg) $\frac{a}{b}$	(605)	2/22 (1, 3)	1/22	7/22 (5)	10/22 (20)	11/22
40 mg/kg (J0 - J3) (4 x 10 mg/kg) $\frac{a}{b}$	(543)	2/11 (1, 9)	0/11	1/11 (1, 8)	7/11 (23)	8/11
50 mg/kg (J0 - J4) (5 x 10 mg/kg) $\frac{a}{b}$	(1100)	1/10 (1, 8)	0/10	1/10 (1, 5)	3/10 (4)	3/10
^a Nombre positif/nombre de personnes examinées. ^b Moyenne géométrique de la densité des trophozoïtes par mm ³ de sang. ^x Parmi les positifs sont également inclus les sujets ayant reçu un traitement au Fansidar (sulfadoxine + pyriméthamine) à l'enquête précédente et devenus négatifs.						

TABLEAU 3. MESURE DE LA SENSIBILITE DE PLASMODIUM FALCIPARUM AUX MEDICAMENTS : CHLOROQUINE, MEFLOQUINE, MEFLOROQUINE, QUININE, AMODIAQUINE
(EPREUVE MICROTÉCHNIQUE IN VITRO)

Chloroquine		Méfloquine		Quinine		Amodiaquine	
Concentration en μ moles/l	Nombre d'isolats présentant une schizogonie	Concentration en μ moles/l	Nombre d'isolats présentant une schizogonie	Concentration en μ moles/l	Nombre d'isolats présentant une schizogonie	Concentration en μ moles/l	Nombre d'isolats présentant une schizogonie
Témoïn	22 ^a	Témoïn	20 ^a	Témoïn	13 ^a	Témoïn	14 ^a
0,2	22	0,1	20	0,8	13	0,05	14
0,4	20	0,2	17	1,6	11 (+1) ^b	0,1	10
0,8	17	0,4	10 (+1) ^b	3,2	7	0,2	5
1,14	16 (+1) ^b	0,8	4 (+2) ^b	6,4	3 (+1) ^b	0,4	1 (+1) ^b
1,6	15 (+1) ^b	1,14	2 (+3) ^b	12,8	0 (+1) ^b	0,8	1 (+1) ^b
3,2	14 (+2)	1,6	0 (+3) ^b	25,6	0	1,6	1 (+1) ^b
6,4	5 (+2) ^b	3,2	0 (+2) ^b	51,2	0	3,2	0

^a Observations faites sur 200 formes asexuées.

^b Présence de schizontes rares observée sur plus de 200 formes asexuées.

TABEAU 4. MESURE DE LA SENSIBILITE DE PLASMODIUM FALCIPARUM AUX MEDICAMENTS : CHLOROQUINE, MEFLOROQUINE, QUININE, AMODIAQUINE :
POURCENTAGE D'INHIBITION POUR L'ENSEMBLE DES ISOLATS EXAMINES PAR L'EPREUVE MICROTECHNIQUE IN VITRO
(TEMPOIN = NOMBRE CUMULE DE SCHIZONTES POUR 200 FORMES ASEXUEES)

CHLOROQUINE	μ moles/l % inhibition	Témoïn		1,14		1,6		3,2		6,4		CE 50	
		(1972)		0,2	0,4	0,8	1,14	1,6	3,2	6,4	87,1	98,9	0,723
		6,3	33,1	58,6	69,4	75,7	87,1	98,9					

MEFLOQUINE	μ moles/l % inhibition	Témoïn		0,8		1,14		1,6		3,2		CE 50	
		(1533)		0,1	0,2	0,4	0,8	1,14	1,6	3,2	100	100	0,146
		35,8	64,4	81,1	99,4	99,9	100	100					

QUININE	μ moles/l % inhibition	Témoïn		1,6		3,2		12,8		25,6		CE 50	
		(1105)		0,8	1,6	3,2	6,4	12,8	25,6	51,2	100	1,097	
		36,0	64,2	95,1	98,8	100	100	100					

AMODIAQUINE	μ moles/l % inhibition	Témoïn		0,1		0,2		0,8		1,6		CE 50	
		(1123)		0,05	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	100	0,096	
		6,5	62,7	88,9	99,8	99,9	99,9	99,9					

TABLEAU 5. RELATION ENTRE L'EPREUVE DE SENSIBILITE DE PLASMODIUM FALCIPARUM
A LA CHLOROQUINE IN VITRO ET L'EPREUVE IN VIVO
(25 MG CHLOROQUINE BASE PAR KG DE POIDS CORPOREL EN 3 JOURS)

N° du malade	Nombre de formes asexuées/mm ³ au jour 0	Concentration d'inhibition 100 %	% d'inhibition à 1,14 μ moles par litre de sang	Réponse <u>in vivo</u> ^a
1	14 300	0,4	100 %	A
2	880	1,14 (>6,4) ^b	100 %	A
3	17 000	3,2 (>6,4) ^b	99,3 %	A
4	4 500	6,4	92,5 %	C
5	7 000	6,4	78,4 %	A
6	10 100	6,4	61,5 %	B
7	730	6,4	34,4 %	C
8	18 600	6,4	20,8 %	C
9	100	>6,4	39,5 %	B
10	700	>6,4	16,7 %	D

^a A : Disparition des parasites dans les 7 jours, négatif au jour 15.

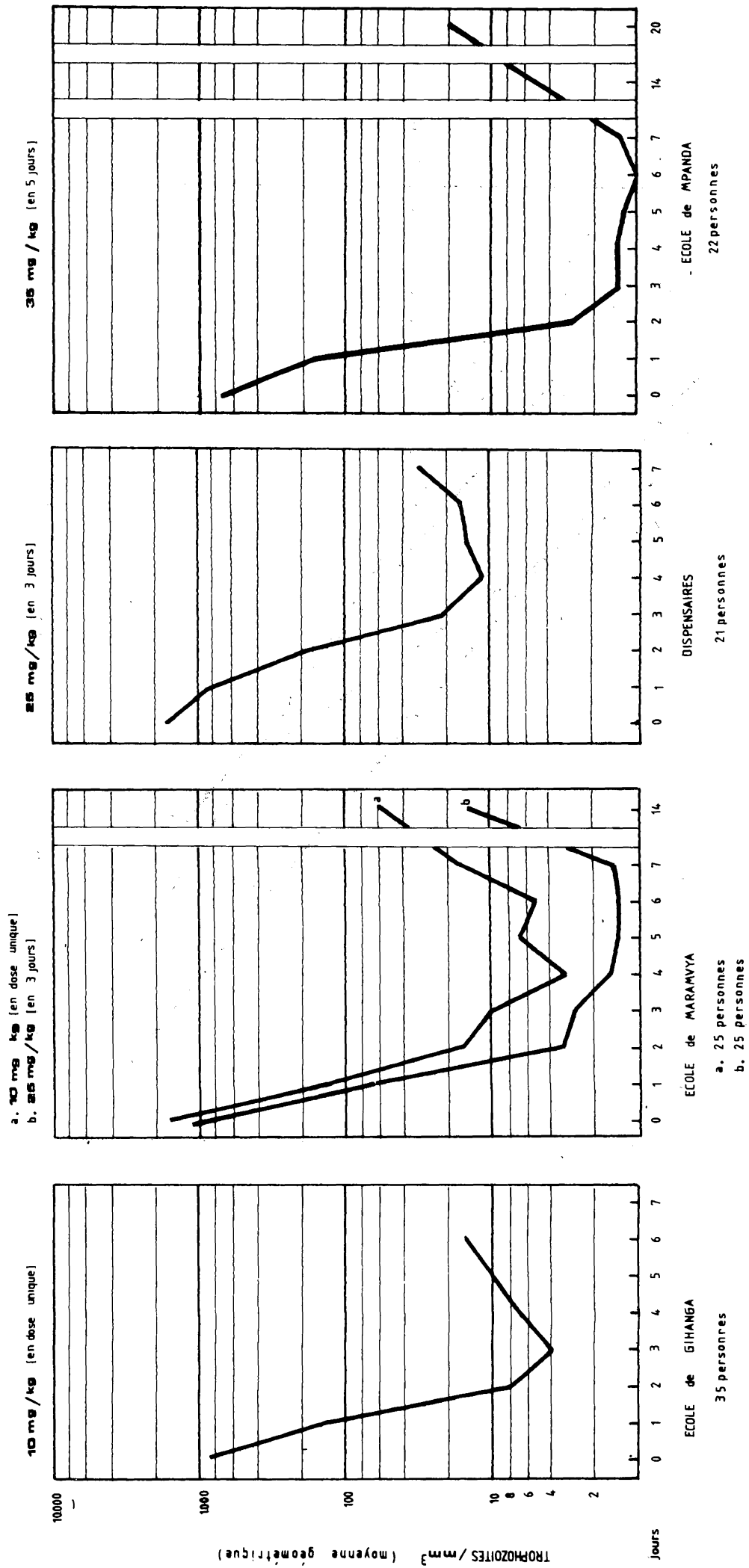
B : Disparition des parasites dans les 7 jours, positif au jour 15.

C : Disparition et réapparition des parasites dans les 7 jours.

D : Persistance des parasites suite au traitement.

^b A une concentration de 6,4 μ moles/litre de sang, 1 schizonte observé pour plus de 200 formes asexuées.

FIG. 1. EFFICACITE DE DIVERS TRAITEMENTS A LA CHLOROQUINE SUR LA DENSITE PARASITAIRE



TROPHOZOITES/mm³ (moyenne géométrique)

Jours

100 mg/kg (en dose unique)

a. 10 mg/kg (en dose unique)
b. 25 mg/kg (en 3 jours)

25 mg/kg (en 3 jours)

35 mg/kg (en 5 jours)

ECOLE de GIHANGA

35 personnes

ECOLE de MARAMVYA

a. 25 personnes
b. 25 personnes

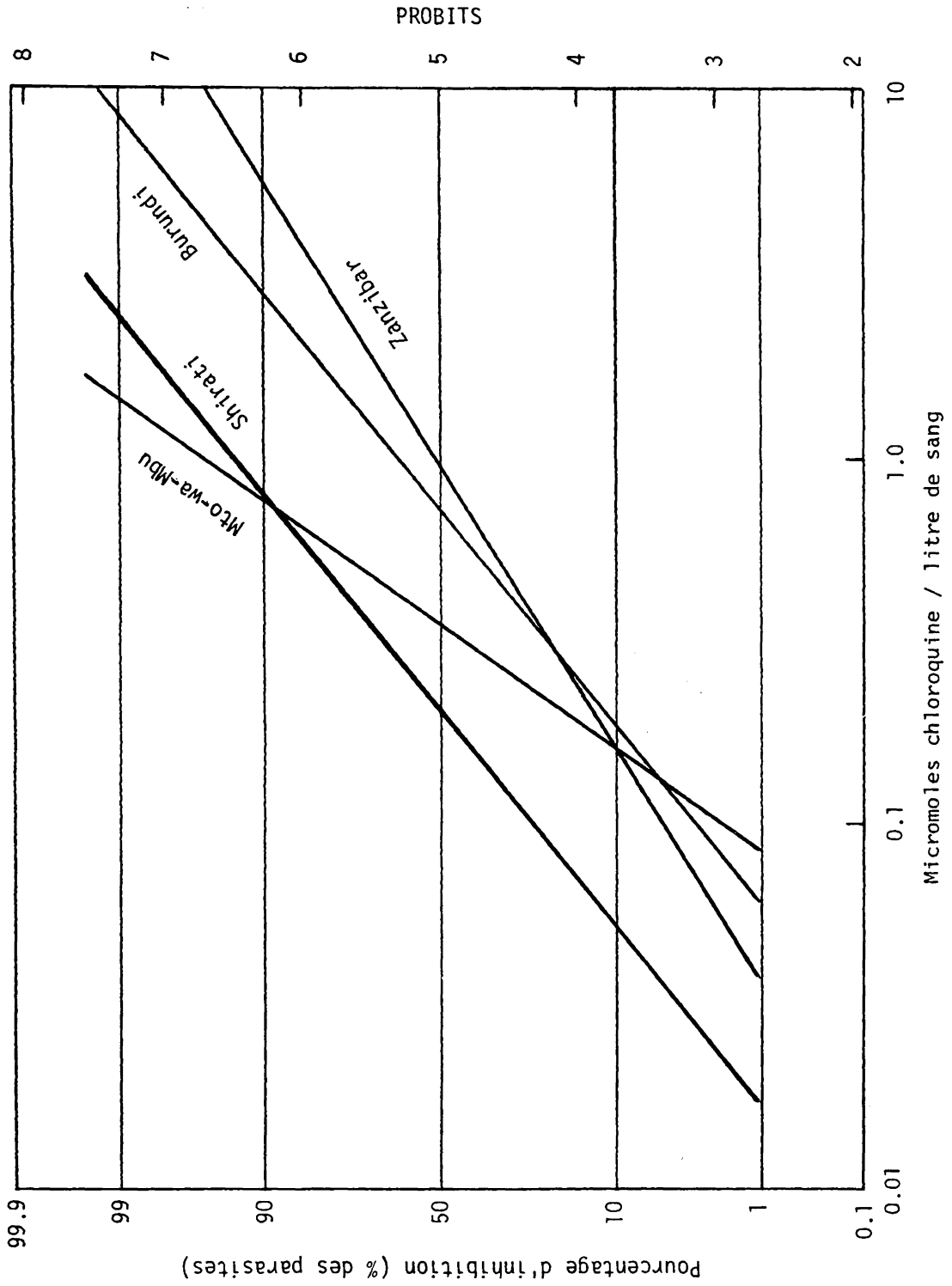
DISPENSAIRES

21 personnes

ECOLE de MPANDA

22 personnes

FIG. 2. INHIBITION DE LA SCHIZOGONIE AVEC L'EPREUVE MICROTECHNIQUE IN VITRO A LA CHLOROQUINE POUR DES ISOLATS PROVENANT DE MTO-WA-MBU, SHIRATI ET ZANZIBAR (REPUBLIQUE-UNIE DE TANZANIE) ET DU BURUNDI. REGRESSION LOG-PROBIT DE CES ETUDES



"
 "
 "