

EVALUATION PAR TEST SIMPLIFIE IN VIVO DE LA CHIMIOSENSIBILITE DU *PLASMODIUM FALCIPARUM* A LA CHLOROQUINE ET A L'AMODIAQUINE DANS LE SUD DU CAMEROUN

par

P. GAZIN (1), J.P. LOUIS (2), L. MULDER (3), F. EBERLE (4), R. JAMBOU (4), MOYROUD (5) ET C. HENGY (6).

SUMMARY

CHLOROQUINE AND AMODIAQUINE *PLASMODIUM FALCIPARUM* SUSCEPTIBILITY BY A *IN VIVO* TEST ON 7 DAYS IN THE SOUTH OF CAMEROUN.

Plasmodium falciparum susceptibility to chloroquine and amodiaquine at a posology of 25 mg/kg *per os* in 3 days was evaluated in the pupils of 6 primary schools of South-West Cameroon during the first semester 1989.

Parasitic index was 75 %. *Plasmodium falciparum* was present in 96 % of the infections 24 % of the 357 children treated with chloroquine were carriers of trophozoites at D3 and 17 % at D7. Complete resistance, at level R III, was observed in 4 % of the children. By the 55 children treated with amodiaquine, 13 % and 10 % were carriers of few trophozoites at D3 and D7. The significance of these results is discussed.

I - INTRODUCTION

La résistance du *Plasmodium falciparum* à la chloroquine a été constatée chez des sujets expatriés en 1985 dans le Sud du Cameroun (7) et en 1986 dans la ville de Yaoundé (2).

Pour pouvoir apprécier la situation et suivre ultérieurement son évolution, nous avons mené durant le premier semestre 1989 six enquêtes d'évaluation par un test simplifié sur 7 jours de l'efficacité *in vivo* de la chloroquine et une enquête d'efficacité de l'amodiaquine dans des écoles primaires situées au Sud du Cameroun.

II - MATERIEL ET METHODES

Les écoles ont été choisies en fonction de leur situation géographique, de l'accord et de la bonne collaboration du personnel enseignant. Il s'agit de (figure 1):

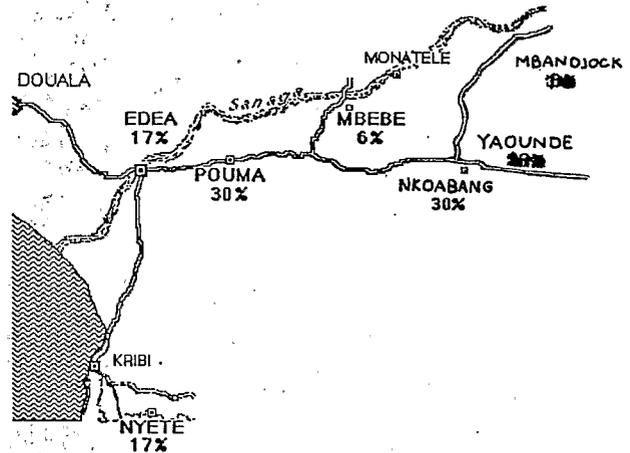


FIGURE 1

Variations géographiques des taux de chloroquinorésistance de type R I, R II ou R III de *Plasmodium falciparum* au Sud du Cameroun en 1989 étudiées par tests simplifiés *in vivo* sur 7 jours avec 25 mg/kg *per os* en 3 jours.

- (1) Médecin parasitologiste, Service d'Entomologie Médicale (ORSTOM) de l'Organisation de Coordination pour la lutte contre les grandes Endémies en Afrique Centrale (OCEAC) B.P. 288 - Yaoundé Cameroun.
- (2) Médecin en chef Spécialiste des grandes Endémies. Organisation de Coordination pour la lutte contre les grandes Endémies en Afrique Centrale (OCEAC) B.P. 288 - Yaoundé Cameroun.
- (3) Université de Nymegen Pays-Bas.
- (4) Médecin (Volontaire du Service National).
- (5) Biologiste des hôpitaux, Centre Universitaire des Sciences de la Santé Yaoundé Cameroun.
- (6) Médecin Principal, biologiste des hôpitaux, Service des Laboratoires, Organisation de Coordination pour la lutte contre les grandes Endémies en Afrique Centrale (OCEAC) B.P. 288 - Yaoundé Cameroun.

— Ecole de la Mission Catholique de Pouma, village situé à 110 km à l'Ouest de Yaoundé sur l'axe routier Yaoundé-Douala, disposant d'un hôpital et d'un bon accès aux traitements. L'enquête a été effectuée en janvier.

— Ecole de la Mission Catholique de Nkoabang, village situé à 10 km au Sud-Est de Yaoundé, à la limite des milieux urbain et rural, disposant d'un dispensaire efficace (enquête effectuée en février).

— Ecoles de la plantation d'hévéas de Nyété située à 200 km au Sud-Ouest de Yaoundé en milieu forestier mis en valeur depuis 1975. La société d'exploitation, Hévécam, a créé un centre médical de très bon niveau (enquête effectuée en mars).

— Ecole de Mbébé-Kikot, village situé sur la rive gauche de la Moyenne Sanaga, à 100 km au Nord-Ouest de Yaoundé, en milieu forestier modifié depuis plusieurs décennies particulièrement par la culture du cacao. Il est doté d'un dispensaire peu actif ne disposant que rarement de médicaments (enquête effectuée en avril).

— Ecole Saint-Martin à Edéa, petite ville industrielle à 180 km à l'Ouest de Yaoundé sur l'axe Yaoundé-Douala. Une partie des enfants a accès aux soins donnés par la principale entreprise (ALUCAM) ; les autres disposent des dispensaires publics plus ou moins actifs (enquête effectuée en mai).

— Ecole de Mbandjock, agglomération située sur la rive gauche de la Sanaga, à 100 km au Nord-Est de Yaoundé, développée autour d'une plantation de cannes à sucre. Une grande partie de sa population a accès aux soins dans le centre médical de la plantation (enquête effectuée en juin).

Les écoliers présents le premier jour de l'enquête (appelé J0) sont examinés et pesés. Les rates sont palpées et mesurées selon l'indice de HACKETT. Une goutte de sang est prélevée au vaccinostyle à la pulpe d'un doigt. Les hématozoaires sont recherchés au microscope optique sur goutte épaisse et sur frottis mince. Leur mise en évidence est faite sur goutte épaisse par l'examen de 50 champs (environ 1.000 leucocytes). Le seuil de détection est estimé à 30 parasites par mm^3 de sang. La densité parasitaire est établie à partir de la goutte épaisse ou à partir des frottis minces pour les parasitémies élevées (examen de 100 champs, environ 20.000 hématies). Le résultat est exprimé en nombre de globules rouges parasités par mm^3 (GRP/ mm^3) sur la base de 8.000 leucocytes et 4 millions d'hématies par mm^3 de sang. Les espèces parasitaires sont déterminées sur frottis mince.

Tous les enfants reçoivent à J0 une dose de 10 mg/kg de poids de chloroquine (Nivaquine®) ou d'amo-diaquine (Flavoquine®) *per os*, une dose identique

à J1 et une dose de 5 mg/kg à J2, soit au total 25 mg/kg en 3 jours. L'absorption des comprimés est contrôlée et les enfants surveillés pendant un quart d'heure après la prise.

Les sujets inclus dans les tests de sensibilité sont les porteurs asymptomatiques à J0 d'une parasitémie à *Plasmodium falciparum* > 500 globules rouges parasités/ mm^3 , ayant correctement pris leur traitement à J0, J1 et J2, ayant été contrôlés à J3 et J7.

Les tests statistiques utilisés sont les tests paramétriques de comparaison de pourcentages et de moyennes.

III - RESULTATS

Prévalence parasitaire initiale et indice splénique

La prévalence parasitaire initiale est remarquablement élevée dans toutes les tranches d'âge : 68 % des écoliers âgés de 4 à 6 ans et 76 % de ceux âgés de 7 à 14 ans sont porteurs d'hématozoaires (tableau I). Elle est plus basse en milieu urbain et suburbain (Nkoabang 56 % et Edéa 65 %) qu'en milieu rural disposant de structures sanitaires efficaces (Mbandjock 79 %, Nyété 76 %, Pouma 85 %) et qu'en milieu rural dépourvu de ces structures (Mbébé 92 %, différences très significatives $p < 0,01$). La densité parasitaire moyenne décroît avec l'âge, de 900 à 185 globules rouges parasités/ mm^3 ainsi qu'il est classique en zone d'endémie palustre (figure 2).

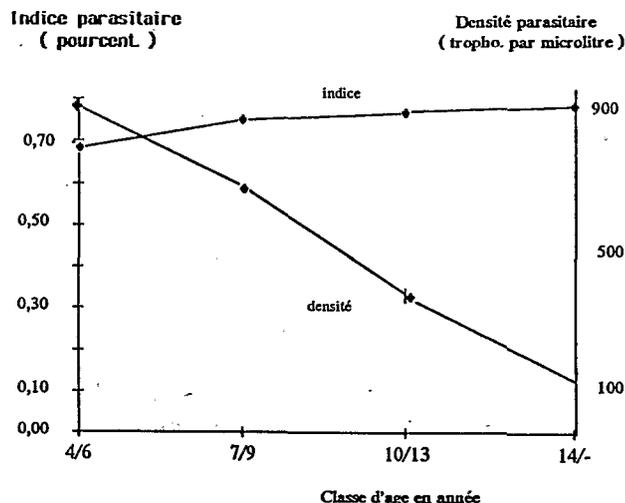


FIGURE 2

Répartition des indices et des densités parasitaires moyens selon l'âge pour les 6 études réalisées.

TABLEAU I

Prévalence et densité parasitaire en fonction de l'âge chez les écoliers de 6 écoles du Sud Cameroun en 1989.

Age	Pouma	Nkoa-bang	Nyété	Mbébé	Edéa	Mbandjock	Total
4 à 6 ans	IP : $\frac{43}{54}$ soit 80 % d : 807	IP : $\frac{50}{90}$ soit 56 % d : 946	IP : $\frac{23}{35}$ soit 66 % d : 623	IP : $\frac{26}{28}$ soit 93 % d : 1.025	IP : $\frac{4}{5}$ d : 206	IP : $\frac{8}{13}$ d : 1.845	IP : $\frac{154}{225}$ soit 68 % d : 900
7 à 9 ans	IP : $\frac{32}{38}$ soit 84 % d : 770	IP : $\frac{26}{50}$ soit 52 % d : 1.198	IP : $\frac{108}{138}$ soit 78 % d : 714	IP : $\frac{29}{30}$ soit 97 % d : 775	IP : $\frac{82}{123}$ soit 67 % d : 484	IP : $\frac{99}{121}$ soit 82 % d : 620	IP : $\frac{376}{500}$ soit 75 % d : 682
10 à 13 ans	IP : $\frac{43}{48}$ soit 89 % d : 476	—	IP : $\frac{88}{111}$ soit 79 % d : 285	IP : $\frac{32}{36}$ soit 89 % d : 500	IP : $\frac{36}{61}$ soit 59 % d : 542	IP : $\frac{46}{61}$ soit 75 % d : 305	IP : $\frac{245}{317}$ soit 77 % d : 388
14 ans et plus	IP : $\frac{9}{10}$ d : 283	—	IP : $\frac{16}{26}$ soit 62 % d : 276	IP : $\frac{27}{30}$ soit 90 % d : 100	—	—	IP : $\frac{52}{66}$ soit 79 % d : 185
Total	IP : $\frac{127}{150}$ soit 85 % d : 618	IP : $\frac{76}{140}$ soit 54 % d : 1.030	IP : $\frac{235}{310}$ soit 76 % d : 467	IP : $\frac{114}{124}$ soit 92 % d : 480	IP : $\frac{122}{189}$ soit 65 % d : 485	IP : $\frac{153}{195}$ soit 78 % d : 548	IP : $\frac{827}{1.108}$ soit 74,6 % d : 560

IP : indice parasitologique.

d : densité moyenne géométrique des parasitemies de sujets im-paludés, exprimée en globules rouges parasités par mm³ de sang.

Plasmodium falciparum est présent dans 96 % des infections, *Plasmodium malariae* dans 9 % et *Plasmodium ovale* dans 2 %, ces deux dernières espèces étant généralement associées à *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium ovale* sont plus fréquents à Nkoabang, Nyété et Mbébé (17 % des infections) qu'à Pouma, Edéa et Mbandjock (5 % des infections, différence très significative, $p < 0,01$).

L'indice splénique est élevé, particulièrement à Mbébé et présente la classique diminution de cet indice avec l'âge (tableau II).

Efficacité du traitement par la chloroquine

Au total, 357 enfants sont inclus dans l'étude (tableau III). Leur parasitemie moyenne initiale est de 2.385 globules rouges parasités/mm³. Ils ne diffèrent ni par leur âge moyen, 9 ans, ni par leur poids moyen, 25 kg, des autres écoliers prélevés. Aucun effet secondaire lié à la prise de la chloroquine n'est observé.

TABLEAU II

Indice splénique chez les écoliers de 5 écoles du Sud Cameroun en 1989.

Age	Pouma	Nkoa-bang	Nyété	Mbébé	Edéa	Total
Moins de 10 ans	n = 92 IS = 38 %	n = 140 IS = 38 %	n = 173 IS = 39 %	n = 58 IS = 54 %	n = 128 IS = 30 %	n = 591 IS = 38 %
10 à 13 ans	n = 48 IS = 28 %	—	n = 111 IS = 37 %	n = 36 IS = 47 %	n = 61 IS = 18 %	n = 256 IS = 32 %

IS : indice splénique.

TABLEAU III

Efficacité du traitement par la chloroquine chez des écoliers de 6 écoles du Sud Cameroun en 1989.

Effec-tif	Pouma	Nkoa-bang	Nyété	Mbébé	Edéa	Mbandjock	Total
N	56	36	58	54	68	85	357
dJ0	3.070	2.440	1.700	2.750	1.585	2.790	2.385
+J3	46 %	36 %	12 %	15 %	24 %	20 %	24 %
dJ3	50	92	190	75	40	37	65
+J7	30 %	28 %	17 %	11 %	18 %	8 %	17 %
dJ7	80	135	71	40	141	83	97

N : effectif d'enfants inclus dans le test.

dJ0 : densité moyenne initiale des sujets inclus dans le test.

+J3 : pourcentage de sujets porteurs de trophozoïtes de *P. falciparum* à J3.

dJ3 : densité parasitaire moyenne des sujets porteurs de trophozoïtes de *P. falciparum* à J3 exprimée en GRP/mm³.

+J7 : pourcentage de sujets porteurs de trophozoïtes de *P. falciparum* à J7.

dJ7 : densité parasitaire moyenne des sujets porteurs de trophozoïtes de *P. falciparum* à J7 exprimée en GRP/mm³.

A J3, 24 % de ces enfants sont porteurs de rares trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*, avec une parasitemie moyenne de 65 globules rouges parasités/mm³.

J7, 17 % sont porteurs de trophozoïtes, avec une parasitemie moyenne de 97 globules rouges parasités/mm³. C'est à Pouma et Nkoabang que la résistance est la plus élevée (30 % et 28 %) ; dans les deux sites industriels de Nyété et Edéa, elle est de 17 % et 18 % ; à Mbébé et Mbandjock, elle est de 11 % et 8 %.

Efficacité du traitement par l'amodiaquine

Le test de l'amodiaquine n'a été effectué que chez 55 élèves de Nyété. Aucun effet secondaire n'a été rapporté. 13 % de ces enfants sont porteurs de rares trophozoïtes à J3 et 10 % à J7 avec une parasitemie moyenne de 50 globules rouges parasités/mm³.

IV - DISCUSSION

La prévalence parasitaire très élevée chez les enfants en âge scolaire, l'indice splénique et la répartition des espèces plasmodiales sont comparables à ceux observés il y a 30 ans par LANGUILLON et collaborateurs dans la même région (4) : les hématozoaires et les hommes vivent dans un état d'apparent équilibre.

Le phénomène de résistance aux antipaludéens peut être étudié

- Par des tests thérapeutiques chez les malades.
- Par des tests *in vivo* chez des porteurs asymptomatiques : soit test en 28 jours, ininterprétable en zone de transmission continue, soit test simplifié en 7 jours.
- Par des tests *in vitro*.

Les tests *in vivo* permettent d'évaluer la valeur de schémas thérapeutiques dans le traitement des accès palustres. Avec les amino-4-quinoléines, le délai maximal de disparition des hématozoaires sensibles est de 4 jours. La persistance d'une parasitémie aux jours 5, 6, 7 à une densité égale ou supérieure à la valeur initiale correspond à une résistance complète (R III) ; sa persistance à une densité inférieure à 25 % de la valeur initiale correspond à une résistance partielle (R II), la « disparition » de la parasitémie à J5 et J6 et sa remontée à un taux détectable au 7^e jour à une recrudescence précoce (R I) (5, 8). Nous avons contrôlé les parasitémies à J3 et J7. Il n'est donc pas possible dans cette étude de différencier les résistances de type R I ou R II.

Nous avons inclus dans notre étude les sujets dont nous avons vérifié la prise orale effective de 25 mg/kg d' amino-4-quinoléines en 3 jours. Nous n'avons pas mesuré les taux sanguins de ces produits et nous ne savons pas si certains cas de diminution d'efficacité ne sont pas dus à des taux faibles de ces produits par malabsorption ou métabolisation accélérée.

Parmi les enfants traités par la chloroquine, 17 % sont porteurs d'hématozoaires à J7 et parmi ceux traités à l'amodiaquine, 10 % sont porteurs. 16 enfants traités à la chloroquine présentent une résistance vraie de type R III. Ils sont significativement plus jeunes que les autres sujets de l'étude (âge moyen : 7 ans, $p < 0,03$).

Nous avons observé que le taux de résistance est bas là où la pression médicamenteuse est faible (structures sanitaires peu actives, prévalence parasitaire et indice splénique très élevés) et plus important là où la consommation des antipaludéens est probablement plus régulière (cas des Missions).

Une étude *in vitro* a été effectuée à la même époque que l'observation des premiers cas de chloroquinorésistance au Cameroun. Elle mettait en évidence une bonne sensibilité de souches provenant de sujets vivant à Douala, Yaoundé et Kumba (1).

En 1986, KOUAMOOU et collaborateurs (3) ont effectué un test *in vivo* à la chloroquine à 25 mg/kg chez des enfants de Nyété et ont observé un taux élevé de résistance (38 %). En 1987, à Limbé, ODUOLA et collaborateurs (6) ont également observé *in vivo* un taux de résistance élevé. Dans ces deux études, le détail de l'évolution des parasitémies n'est pas donné et le type de résistance n'est pas précisé. La répartition des souches chloroquinorésistantes apparaît être hétérogène même dans une région comme le Sud-Ouest du Cameroun où le climat équatorial est à l'origine d'une transmission palustre qui, bien que présentant des variations saisonnières, est permanente (4, *loc. cit.*).

Nos 6 enquêtes ont confirmé l'existence de souches de *Plasmodium falciparum* résistantes aux amino-4-quinoléines aux doses habituellement employées. Mais elles ont aussi mis en évidence que dans la grande majorité des cas, ces produits restent efficaces pour faire chuter les parasitémies. Nous n'avons pas traité des malades mais des porteurs asymptomatiques. Nous obtenons une estimation de la chimiosensibilité des souches circulantes. Il ne peut en être déduit des schémas thérapeutiques rigides pour les malades. Dans les dispensaires, les médecins sont confrontés à des taux de résistance plus élevés, jusqu'à 60 % à Yaoundé (2, *loc. cit.*) : leurs malades sont fréquemment des cas d'échec de l'automédication. La chloroquine doit encore être utilisée en traitement présomptif de l'accès palustre à domicile, tandis que dans les structures sanitaires d'autres protocoles sont souvent nécessaires.

V - CONCLUSION

La réalisation dans le Sud-Ouest du Cameroun durant le premier semestre 1989 d'un test *in vivo* de sensibilité à la chloroquine à la dose de 25 mg/kg chez 357 enfants et à l'amodiaquine à la même posologie chez 55 enfants a montré que ces produits sont encore efficaces dans 83 % et 90 % des cas. Seulement 16 cas de résistance vraie de type R III, soit 3,8 % de l'effectif étudié, ont été observés. C'est pourquoi nous préconisons de continuer à utiliser ces produits en traitement de première intention des accès palustres simples.

RESUME

La sensibilité *in vivo* du *Plasmodium falciparum* à la chloroquine et à l'amodiaquine à la dose de 25 mg/kg *per os* en trois jours a été évaluée par six enquêtes effectuées en 1989 dans le Sud-Ouest du Cameroun.

La prévalence plasmodiale chez les écoliers est de 75 %. *Plas-*

modium falciparum est présent dans 96 % des infections. Parmi 357 enfants traités à la chloroquine, 24 % sont porteurs de trophozoïtes au 3^e jour du traitement et 17 % au 7^e jour. Une résistance complète de type R III est observée dans 4 % des cas. Parmi les 55 enfants traités à l'amodiaquine, 13 % et 10 % sont trouvés porteurs de rares trophozoïtes à J3 et J7. La signification de ces résultats est discutée.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BRASSEUR P., DRUILHE P., KOUAMOUCO J., BRANDICOURT O., DANIS M., MOYOU S.R. - High level of sensibility to chloroquine of 72 *Plasmodium falciparum* isolates from Southern Cameroon in January 1985. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1986, 35, 4, 711-716.
- 2 - HENGY C., GARRIGUE G., ABISSEGUE B., GHOGOMU N.A., GAZIN P., GELAS H., KOUKA-BEMBA D., LE BRAS J., JAMBOU R. - Surveillance de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à Yaoundé et ses environs (Cameroun). Etude *in vivo*, *in vitro*. *Bull. Soc. Path. Ex.* 1989, 82, 217-223.
- 3 - KOUAMOUCO J., ENYONG P., BRASSEUR P., MOYOU S.R., DRUILHE P. - Nouveau foyer de paludisme chloroquinorésistant en zone forestière au Cameroun. *Bull. Soc. Path. Ex.* 1987, 80, 3 bis, 452-458.
- 4 - LANGUILLON J., MOUCHET J., RIVOLA E., RATEAU J. - Contribution à l'étude de l'épidémiologie du paludisme dans la région forestière du Cameroun. *Méd. Trop.* 1956, 16, 3, 347-378.
- 5 - LE BRAS J. et SAVEL J. - La détermination de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum*. *Annales de Pédiatrie*, 34, 5, 349-356.
- 6 - ODUOLA A.M.J., MOYOU-SOMO R.S., KYLE D.E., MARTIN S.K., GERENA L., MILHOOS W.K. - Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* in indigenous residents of Cameroon. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1989, 83, 3, 308-310.
- 7 - SANSONETTI P.J., LE BRAS J., VERDIER F., CHARMOT G., DUPONT B., LAPRESLE C. - Chloroquine-résistant *Plasmodium falciparum* in Cameroon. *The Lancet*, 1985, i, 8438, 1154-1155.
- 8 - WERNSDORFER W.H. and PAYNE D. - Drug sensibility tests, in « Malaria », 1988, tome 2. Churchill and Livingstone Ed.