

## ASPECTS DE LA SENSIBILITE DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* A LA CHLOROQUINE A MADAGASCAR DE 1982 A 1993

RAHARIMALALA L., LEPERS J.P., LEPERS-RASON M;D.,  
RABARISON P., RAMAMBANIRINA L., ROUX J.

### RESUME

Depuis 1982 jusqu'en 1993, les différentes études de pharmaco-sensibilité des souches locales de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine ont montré une diminution de l'activité de cette molécule dans environ 20%. Aucun cas de résistance de type R3 n'a jamais été observé. Pendant toute cette période, le phénomène de baisse de sensibilité est resté stable.

La chloroquine reste par son action remarquable sur la parasitémie et la fièvre, l'antimalarique de choix dans les accès palustres simples à Madagascar.

**Mots-clés :** Paludisme à *Plasmodium falciparum* - Chimiosensibilité à la chloroquine - MADAGASCAR.

### SUMMARY

"*Plasmodium falciparum* sensitivity to chloroquine in Madagascar between 1982 and 1993". According to pharmaco-sensitivity studies, about 20% of local *Plasmodium falciparum* strains showed a certain degree of resistance to chloroquine. No resistance of R3 type has never been observed. During this whole period, the decrease of sensitivity phenomenon remains stable.

Because of its remarkable action on parasitemia and fever, chloroquine remains the best antimalaria in simple malarial attacks in Madagascar.

**Key-words :** *Plasmodium falciparum* malaria - Chimiosensitivity to chloroquine - MADAGASCAR.

### INTRODUCTION

Apparue dans le Sud Est asiatique et en Amérique Latine en 1960, la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine s'est étendue à l'Afrique de l'Est, puis à l'Afrique Centrale pour gagner enfin l'Afrique de l'Ouest.

Madagascar n'a pas été épargné puisqu'en 1975 sont suspectés ses premiers cas cliniques de résistance (6) confirmés plus tard en 1981 (2).

Depuis 1982, l'Institut Pasteur de Madagascar étudie et surveille l'évolution du phénomène dans divers faciès épidémiologiques. L'activité de la chloroquine a été étudiée *in vivo* chez des sujets malades et *in vitro* sur des parasites provenant de sujets malades.

### I- MATERIELS ET METHODES

#### 1- Méthodologie

##### A- Protocole *in vivo*

Les études ont porté sur des malades traités selon les protocoles thérapeutiques standard de l'OMS à savoir :

- une dose totale *per os* de 25 mg/kg de chloroquine répartie en 3 jours.

Les malades ont été ensuite suivis quotidiennement de J0 à J7 avec prise de la température axillaire et calcul de la parasitémie sur frottis ou sur goutte épaisse. Ils subissaient un

dernier contrôle à J14. De 1982 à 1986 (4,5), les parasites étaient recherchés et comptés sur frottis. Par cette méthode, le seuil théorique de détection est de 250 hématies parasitées par microlitre de sang. A partir de 1987, les parasitémies sont calculées sur goutte épaisse avec un seuil théorique de détection de 8 parasites par microlitre de sang.

Les critères d'inclusion sont :

- la présence de fièvre et / ou des signes cliniques évocateurs de paludisme
- une parasitémie supérieure à 2500 hématies parasitées par microlitre de sang
- un test urinaire de Bergqvist négatif (3)
- une probabilité raisonnable du suivi
- et le consentement du malade.

Quant aux critères d'exclusion, ils concernent :

- les malades présentant des accès graves
- ceux sujets à des vomissements
- les enfants de moins de 2 ans pour des raisons de prise médicamenteuse
- la prise récente de chloroquine détectée par le test urinaire de Bergqvist.

La classification adoptée a toujours été la suivante :

- "S" : lorsque l'on ne décèle plus de parasites sanguins et que le frottis ou la goutte épaisse est

toujours négatif à J14

- "R1" : quand la parasitémie devient négative, mais se repositivise à J7

- "R2" : elle chute au dessous de 25% de sa valeur initiale mais ne disparaît pas totalement

- "R3" : il n'y a pas de diminution notable de la parasitémie

- "SR1" : il n'y a plus de parasites dans le sang périphérique à J7 mais on en retrouve à J14. Dans ce cas, il peut s'agir d'une résistance de type R1 tardif ou de recontamination.

#### B- Méthode *in vitro*

L'action de la chloroquine a été étudiée par la méthode mise au point par LE BRAS et DELORON (7). Il s'agit du semi-microtest utilisé :

- de 1982 à 1986 dans sa version optique
- depuis 1987 dans sa version isotopique.

### 2- Populations explorées

#### A- De 1982 à 1986

Plusieurs zones ont été explorées à Madagascar (4, 5) en particulier :

- Tamatave, Manakara sur la Côte Est,
- Nosy Be, Morondava sur le versant Ouest
- Fianarantsoa, Andekaleka, Ankazobe, Alatsinainy sur les Hauts Plateaux.

#### B- De 1987 à 1993

Le phénomène a été surveillé :

- à Manarintsoa de 1987 à 1989 (1,8,9,10,11,12)
- sur la Côte Est (Ile de Sainte Marie et Mananara Nord) en 1989-1990 (13)
- à Ankazobe de 1990 à 1993 (14,15,16)

## II- RESULTATS

### 1- Population

Au total, le protocole a été appliqué à 845 individus :

- 291 pour la période 1982-86
- 554 pour celle 1987-93

### 2- Résultats de 1982 à 1986

#### A- *In vivo*

Sur les 291 malades inclus dans le protocole, 58 (20%) présentent un caractère de résistance au traitement standard se répartissant comme

suit : 12,8% de type SR1 ; 4,8% de R1 ; 2,4% de R2 et 233 (80%) répondent au traitement.

#### B- *In vitro* (semi-microtest version optique)

Parmi les 214 souches étudiées, 39 (18%) ont une valeur supérieure à celle normalement admise (CI 50 supérieure à 100 nanomoles par litre).

### 3- Résultats de 1987 à 1993

#### A- *In vivo*

Sur les 554 malades enrôlés :

- 214 proviennent de Manarintsoa
- 264 d'Ankazobe
- 76 de la Côte Est

Le TABLEAU I détaille la répartition des types de réponse dans ces 3 zones géographiques.

TABLEAU I : Répartition des différents types de réponses *in vivo* à la chloroquine

	Nombre	"S"	"SR1"	"R1"	"R2"
Manarintsoa (1987-1989)	214	95 (44,4%)	59 (27,6%)	32 (14,9%)	28 (13,1%)
Côte Est (1989-1990)	76	42 (55,3%)	13 (17,1%)	15 (19,7%)	6 (7,9%)
Ankazobe (1990-1993)	264	179 (67,8%)	65 (24,6%)	14 (5,3%)	6 (2,3%)
TOTAL	554		137 (24,7%)	61 (11%)	40 (7,2%)

#### B- *In vitro* (Semi-microtest version isotopique)

Les 459 souches étudiées sont toutes des Hauts-Plateaux :

- 243 de Manarintsoa
- 216 d'Ankazobe

Le TABLEAU II résume la classification de ces souches.

TABLEAU II : Classification des réponses *in vitro* des souches étudiées

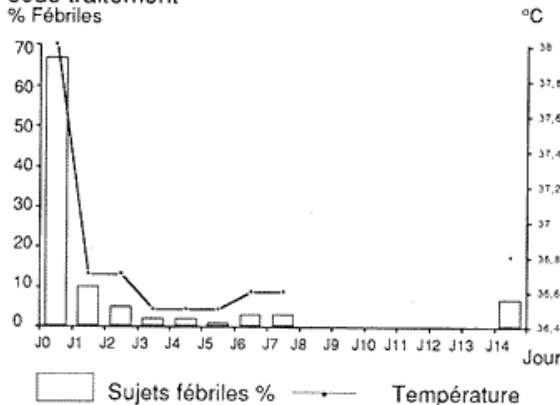
	Nombre	"S"	"R"
Manarintsoa (1987-1989)	243	205 (84,4%)	38 (15,6%)
Ankazobe (1990-1993)	216	198 (91,7%)	18 (8,3%)
TOTAL	459	403 (87,8%)	56 (12,2%)

#### 4- Evolution de la fièvre sous traitement

Cette étude a été faite à Manarintsoa en 1989 et à Ankazobe en 1990 et 1993.

La figure 1 illustre :  
 - l'évolution de la moyenne des températures axillaires aux différents jours du suivi  
 - ainsi que le pourcentage de sujets fébriles

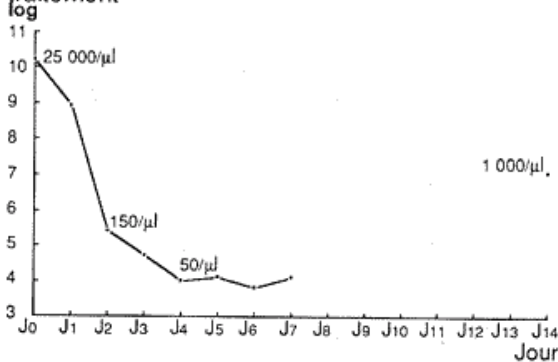
Figure 1 : Evolution du pourcentage de sujets fébriles et de la moyenne des températures axillaires sous traitement



#### 5- Evolution de la parasitémie sous traitement

Comme précédemment, l'étude a été réalisée dans les mêmes localités pendant les mêmes périodes. La figure 2 montre la variation de la moyenne géométrique des densités parasitaires (MGDP) calculées sur goutte épaisse de J0 à J14.

Figure 2 : Evolution de la parasitémie sous traitement



### III- COMMENTAIRES

#### 1- La population

Concernant la population explorée, les raisons de l'inclusion exclusive dans le protocole de sujets malades et non de porteurs est d'une im-

portance majeure à nos yeux vu :

- que c'est le protocole le plus proche des conditions réelles de terrain auxquelles se trouvent confrontés tous les médecins amenés à traiter le paludisme

- qu'il nous a toujours semblé impératif, autant que possible, de ne jamais traiter les porteurs asymptomatiques afin de ne pas nuire à un éventuel développement de la prémunition

- qu'on peut supposer enfin que les sujets malades sont ceux chez lesquels les défenses immunitaires sont temporairement dépassées et qu'elles interféreront beaucoup moins sur les résultats de l'étude.

#### 2- Les résultats

Pendant la période allant de 1982 à 1986, les résultats des tests *in vivo* et *in vitro* pratiqués dans les diverses régions explorées n'ont pas montré de différence significative. Environ 80% des souches sont sensibles à la fois *in vitro* et *in vivo*.

A partir de 1987 et de l'explosion épidémique (8) sur les Hauts Plateaux malgaches, on constate une aggravation de la situation *in vivo* (12) tandis que des chiffres similaires aux précédents sont observés *in vitro*.

Cette aggravation *in vivo* est due à plusieurs causes.

Pour ce qui est des résultats généraux, il faut rappeler que nous avons effectué les contrôles parasitaires sur goutte épaisse et qu'ainsi les dépistages sont devenus nettement plus sensibles que pendant la période précédente où ils se faisaient sur frottis.

En ce qui concerne la comparaison des résultats par région, *in vivo* il n'existe pas de différence significative entre les pourcentages des souches sensibles et celles présentant un caractère de résistance entre Ankazobe et la Côte Est (Chi2 : NS).

Par contre, la différence notée entre les résultats de Manarintsoa / Côte Est et Manarintsoa / Ankazobe est significative avec respectivement des valeurs de p du Chi2 égale à  $10^{-2}$  et  $<10^{-6}$ . Ces faits nous semblent être dus aux phénomènes de prémunition existant sur la Côte Est comme à Ankazobe. A l'opposé, la non prémunition de la population à Manarintsoa expliquerait la moins grande proportion de souches sensibles. L'état de prémunition semble en définitive renforcer l'activité de la chloroquine.

De toute manière, quelque soit la zone,

aucune souche de type R3 n'a jamais été observée. C'est dire l'efficacité de la chloroquine sur le parasite persiste à Madagascar. Mais encore plus importante est son action sur les signes cliniques de la maladie. En effet, sous traitement :

- la moyenne des fièvres chute rapidement au lendemain de la prise médicamenteuse et elle reste basse même à J14.

- la moyenne géométrique des densités parasitaires élevée à J0 se chiffrant à 22 000 parasites par microlitre n'atteint plus qu'une valeur de 150 par microlitre à J2, donc inférieure au seuil de détection sur frottis.

Même à J14, la valeur moyenne de la repositivité n'est que de 1 000 par microlitre donc relativement basse.

#### IV- CONCLUSIONS

Bien que le phénomène de résistance ait connu une aggravation depuis 1987, il n'existe pas à l'heure actuelle de résistance de type R3 à Madagascar.

La chloroquine garde son importance de ce fait et se révèle efficace dans tous les cas sur les signes cliniques en particulier la fièvre (reprise d'activité par le malade au lendemain du traitement) et la parasitémie (diminution de cette dernière même chez les souches de types R2, décelable uniquement sur goutte épaisse et dès J2 ou J3).

En résumé, à Madagascar, en l'absence de souche de type R3 et par l'efficacité de la chloroquine sur les signes cliniques, cet antimalarique est et doit rester le traitement de choix des accès palustres simples mais encore faut-il l'administrer à dose efficace.

#### LES DIFFERENTES ZONES D'ETUDE DE LA CHIMIOSENSIBILITE DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* A LA CHLOROQUINE



## BIBLIOGRAPHIE

- 1• ANDRIAMANGATIANA-RASON M.D., LEPERS J.P., RAHARIMALALA L., VERDIER F., COULANGES P. – Aspects de la chimiosensibilité *in vitro* de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine dans un village des Hauts Plateaux malgaches en 1989. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1991, **57** (1): 93-104.
- 2• ARRONSON B., BENGSSON E., BJORKMAN A., PEHRSON P.O., RONGO L., WAHLGEN M. – Chloroquine resistant *falciparum* malaria in Madagascar and Kenya. *Am. Trop. Med. Parasitol.*, 1981, **75**, 367-373.
- 3• BERGQVIST Y., HED C., FUNDIG L., SUTHERA. – Determination of chloroquine in urine. A field method based on ion pair extraction. *Bull. OMS*, 1985, **63**, 893-898.
- 4• COULANGES P., LE BRAS J., DELORON P., RAMANAMIRIJA J.A., BIAUD J.M., MARCHAIS H. – Etude *in vivo* et *in vitro* de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à Madagascar, 1982-1986. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1987, **53** (1): 63-76.
- 5• COULANGES P., LE BRAS J., DELORON P., RAMANAMIRIJA J.A. – Résistance de *Plasmodium falciparum* aux amino-4-quinoléines. Une revue à propos de l'exemple malgache. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1987, **53** (1) : 77-103.
- 6• GOASGUEN J., GENTELET B., MOREAU J.P., FOURQUET R., COULANGES P. – *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistant ? A propos des deux premiers cas malgaches. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1975, **44** (1) : 144-146.
- 7• LE BRAS J., DELORON P. – *In vitro* study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum* : Evaluation of a new semi-microtest. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1983, **32**, 447-451.
- 8• LEPERS J.P., DELORON P., FONTENILLE D., COULANGES P. – Reappearance of *falciparum* malaria in Central Highlands Plateaux of Madagascar. *Lancet*, 1988, **i**, 586.
- 9• LEPERS J.P., RAMANAMIRIJA J.A., ANDRIAMANGATIANA-RASON M.D., COULANGES P. – Etude de la sensibilité *in vitro* de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine en une région des Hauts Plateaux en 1987. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1988, **81**, 338-844.
- 10• LEPERS J.P., RAMANAMIRIJA J.A., ANDRIAMANGATIANA-RASON M.D., COULANGES P. – Etat actuel de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine en une région des Hauts Plateaux en 1987. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1988, **54** (1) : 133-142.
- 11• LEPERS J.P., DELORON P., ANDRIAMANGATIANA-RASON M.D., RAMANAMIRIJA J.A., COULANGES P. – Sensibilité de *Plasmodium falciparum* à divers antimalariques. Etude en 1988 dans un village des Hauts Plateaux. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1989, **82**, 650-657.
- 12• LEPERS J.P., DELORON P., MOUDEN J.C., LE BRAS J., COULANGES P. – Sudden increase in number of isolates of *Plasmodium falciparum* resistant to chloroquine in Madagascar. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83**, 491-492.
- 13• LEPERS J.P., RAMANAMIRIJA J.A., RANDRIASAMIMANANA J.R., RAMANANDRAIBE L.M., RAHELIMALALA R.S., RENE J.P., COULANGES P. – Le paludisme dans l'île de Sainte Marie en 1988. Approche épidémiologique. Sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1989, **56** (1) : 131-142.
- 14• LEPERS J.P., DELORON P., LEPERS-RASON M.D., RAHARIMALALA L., ROUX J. – Chloroquine for treatment of *falciparum* malaria in Madagascar. *Lancet*, 1993, **341**, May 1, 1163.
- 15• RABARISON P., RAHARIMALALA L., RASON M.D., LEPERS J.P. – Aspects de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine dans une ville des Hauts Plateaux malgaches : Ankazobe. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1991, **58**, 112-118.
- 16• RINGWALD P., RABARISON P., RAHARIMALALA L., RASON M.D., LEPERS J.P., LE BRAS J., ROUX J. – Stabilité de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine en 1990 et 1991 à Ankazobe, village des Hauts Plateaux malgaches. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1992, **85**, 219-222.