

CHIMIORESISTANCE DU PALUDISME, DIFFICULTES D'AUJOURD'HUI Perspectives vaccinales, espoir de demain

J. DELMONT*, J. TESTA*, A.J. GEORGES**

RESUME

Après avoir précisé les mécanismes de survenue et les facteurs de diffusion des chimiorésistances, les auteurs précisent les alternatives thérapeutiques en cas de résistance sous amino-4-quinoléines.

Ceci les conduit à utiliser le plus souvent la quinine, à revaloriser la lutte anti-vectorielle, car il faut mesurer les difficultés des perspectives vaccinales.

Apparition et extension géographique de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux amino-4-quinoléines

Bien que déjà connue envers certains antipaludéens, l'aptitude des formes sexuées de *P. falciparum* à persister dans le sang malgré l'administration d'un médicament à dose correcte est devenue préoccupante au début des années 60. La plus redoutable des 4 espèces plasmodiales perdit en effet sa sensibilité habituelle aux amino-4-quinoléines (chloroquine en particulier) presque simultanément en Colombie (1960) et en Thaïlande (1961). Cet échec du groupe médicamenteux le plus répandu, le plus simple d'emploi, le mieux toléré, le moins cher et le plus efficace dans le traitement et la prévention du paludisme fut d'autant plus mal ressenti qu'au même moment s'évanouissait le dernier espoir d'éradication mondiale du paludisme en raison du développement d'une résistance des anophèles, les insectes vecteurs, aux insecticides. Dans les années suivantes on a assisté à une extension progressive de ces foyers originaux, d'une part à la totalité de la région Nord de l'Amérique du Sud et d'autre part à l'ensemble du Sud-Est asiatique et plus récemment au continent Indo-Pakistanaï. En même temps dans les premières régions atteintes, la proportion des souches plasmodiales présentant une chimiorésistance augmentait ainsi que leur degré de résistance. En 1978, la chimiorésistance du paludisme aux amino-4-quinoléines atteignait pour la première fois l'Afrique Noire, région du monde où le paludisme à

P. falciparum est le plus répandu. A partir de l'Afrique de l'Est (Madagascar, Comores, Kenya, Tanzanie), l'extension s'est faite via l'Afrique Centrale (1983-1985) vers l'Afrique de l'Ouest (quelques cas sont apparus au Sénégal en 1989).

Mécanismes de survenue et facteurs de diffusion de la chimiorésistance

Conséquence d'une mutation chromosomique, spontanée et aléatoire, la résistance des hématozoaires aux amino-4-quinoléines se traduit par l'absence de pénétration de ces médicaments à travers la membrane érythrocytaire, avec pour conséquence, l'absence de leur fixation sur le noyau des parasites. Ainsi, on conçoit que, sous l'influence d'une pression médicamenteuse, les souches plasmodiales sensibles disparaissent alors que les souches chimiorésistantes sont sélectionnées et peuvent ensuite être transmises par les anophèles. Adaptabilité du vecteur, niveau d'immunité des populations, mouvements migratoires interviennent ensuite dans la diffusion des souches résistantes.

Détection et évaluation des niveaux de chimiorésistance

En pratique, l'absence d'efficacité clinique d'une dose thérapeutique d'un antipaludéen attire, dans un premier temps, l'attention du personnel sanitaire. La confirmation de la chimiorésistance ferait appel au dosage sanguin de l'antipaludéen et à la culture *in vitro* de la souche plasmodiale après son isolement et en présence de concentrations croissantes du médicament. Plus facile est la réalisation d'enquêtes collectives utilisant les tests *in vivo*. Le test *in vivo* standard OMS consiste à administrer aux sujets suffisamment parasités (parasitémie supérieure ou égale à 1000/ μ l) d'une population, le plus souvent des enfants, 25 mg de chloroquine base par kg de poids corporel en 3 jours et à évaluer s'ils demeurent ou non porteurs de parasites jusqu'au septième jour (J7) après le début du traitement (J0). Cette épreuve permet de distinguer 4 types de réponses :

* Prof. J. Delmont - Faculté des Sciences de la Santé - B.P. 1383 BANGUI (Centrafrique)

** Institut Pasteur de Bangui - B.P. 923 BANGUI (Centrafrique)

TABLEAU 1
Différents types de réponses des parasites asexués de *P. falciparum* aux amino-4-quinoléines

Réponse	Symbole	Constatations parasitologiques
Sensibilité	S	Disparition des formes érythrocytaires asexuées dans les 7 jours qui suivent le début du traitement
Résistance	RI	Disparition des formes érythrocytaires comme en S mais suivie de recrudescence
Résistance	RII	Diminution marquée des formes érythrocytaires mais pas de disparition complète
Résistance	RIII	Aucune diminution des formes érythrocytaires asexuées qui peuvent augmenter

Des épreuves variantes peuvent être effectuées en utilisant les amino-4-quinoléines à des doses différentes ou en réduisant à deux (J0 et J7) le nombre des gouttes épaisses pratiquées. Dans tous les cas, il est nécessaire de vérifier par des tests de détection, et préalablement à la réalisation des épreuves, l'absence de toute prise d'antipaludéen dans les jours précédents de même que l'absorption du médicament administré.

Evolution et situation actuelle de la résistance aux amino-4-quinoléines

Dans la plupart des pays, les premiers cas de résistance de *P. falciparum* aux amino-4-quinoléines sont apparus chez des expatriés dépourvus de toute immunité antipalustre puis la chimiorésistance a concerné des autochtones, en particulier des enfants dont l'immunité spécifique est encore faible.

En Centrafrique, une résistance aux amino-4-quinoléines s'est manifestée en 1983 chez des expatriés non immuns résidant à Bangui, puis s'est étendue lentement à la population autochtone.

TABLEAU 2
Etude de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine chez des enfants centrafricains pendant la période de 1984-1988 (tests in vivo standard OMS 25 mg/kg de chloroquine base sur 3 jours)

Date enquête	Lieu enquête	Effectif examiné	Age moyen	Résistance	
				Type	%
11/84	Bangui	14	3,5 ans	0	0 %
6/85	Bangui	43	4 ans	1 RII	2,3 %
8/86	Bouar	34	2 ans	0	0 %
11/86	Bambari	57	2 ans	3 RI	5,3 %
7/87	Bangassou	23	2 ans	2 RII	8,7 %
4/88	Bangui	33	8 ans	2 RII	6,1 %
9/88	Bossangoa	49	1,5 ans	3 RII	6,1 %
11/88	Nola	63	3 ans	1 RI 2 RII	4,8 %
1984/1988	Total	316	3,1 ans	4 RI 10 RII	

Le développement progressif de la chimiorésistance à la chloroquine est d'ailleurs confirmé par les résultats de séries de microtests in vitro effectués chez des enfants à Bangui : aucune souche plasmodiale ne se montrait résistante à un degré moyen ou élevé parmi les 13 isolats en 1985 alors que cette proportion atteignait 3/13 en 1987 et s'élevait à 4/10 en 1989. Cette même année, les enquêtes

menées par des tests in vivo simplifiés révèlent que moins de 20 % de souches plasmodiales des écoliers des principales villes du pays sont résistantes à la chloroquine (tableau III), proportion non négligeable mais cependant encore faible si on la compare aux valeurs obtenues dans d'autres pays frontaliers, Zaïre, Congo, Cameroun, où des résistances de type RIII sont par ailleurs déjà apparues.

TABLEAU III
Niveaux de chimiorésistance de *P. falciparum* à la chloroquine chez des écoliers de 6 villes centrafricaines aux mois de Mars-Avril-Mai 1989 (tests in vivo à 25 mg/kg de chloroquine sur 3 jours)

Lieu enquêté	J0		Parasitémiés 500/mm ³	J7	
	Indice plasmodique et GE pratiquées %	(n)		Nombre GE+	Résistance
Bangui	41,5 %	147	45	7	15,5 %
Bambari	53,8 %	119	37	1	2,7 %
Berberati	25,6 %	123	23	3	13 %
Bossangoa	45,5 %	100	29	5	17,2 %
Bangassou	45,3 %	106	32	1	3,2 %
Bouar	42,7 %	110	38	4	10,5 %
Total	42,1 %	705	204	21	10,3 %

En conséquence, le programme national de lutte préconise-t-il toujours au personnel des structures sanitaires de traiter en première intention tout accès fébrile confirmé ou présumé par une dose de 25 mg de chloroquine répartie sur 3 jours consécutifs. En cas de vomissements, de signes de gravité, de persistance ou de reprise de la fièvre, le recours à la quinine demeure cependant indispensable.

Alternatives thérapeutiques en cas de résistance aux amino-4-quinoléines

La chimiorésistance de *P. falciparum* s'exprime vis-à-vis de toutes les amino-4-quinoléines mais plusieurs études ont montré que la résistance croisée entre plusieurs médicaments de cette même famille n'est pas constante et que l'amodiaquine reste souvent plus active que la chloroquine. Il était cependant nécessaire à la recherche pharmaceutique de s'orienter vers la synthèse de nouvelles molécules : association pyriméthamine - sulfamide-retard, dérivés quinoléiniques (méfloquine) ou phénanthréniques (halofantrine). Cependant l'efficacité de ces armes thérapeutiques, après s'être montrée excellente au début de leur utilisation clinique, s'est par la suite révélée inconstante, en particulier en Asie du Sud-Est et, à un bien moindre degré à ce jour, en Afrique Noire. Dans les régions où l'apparition aux amino-4-quinoléines est la plus ancienne, émergent des souches multirésistantes à plusieurs antipaludéens obligeant les thérapeutes à augmenter les doses et la durée de prescription des médicaments, à associer des antibiotiques à activité antipalustre, à recourir plus souvent à des antipa-

ludéens classiques, tel la quinine. Cette substance d'origine végétale est connue depuis des siècles (de même que l'artémisinine ou ginghaosu utilisé en Chine) reste encore très active mais des résistances moins exceptionnelles en Asie du Sud-Est qu'en Afrique de l'Est sont aussi apparues à cet antipaludéen qui demeure toutefois de grande valeur.

Revalorisation de la lutte antivectorielle

Devant l'escalade thérapeutique, mieux vaut conseiller à la population de chercher à supprimer les moustiques ou à s'en protéger. L'assainissement du milieu est une mesure communautaire plus que jamais nécessaire : l'emploi de poissons larvivores du genre *Gambusia* est depuis longtemps préconisé mais plus prometteuse paraît être l'utilisation de bactéries du genre *Bacillus thuringiensis* ou *Bacillus sphaericus* dont certaines souches sont toxiques pour les larves de moustiques. Comme protection individuelle, les moustiquaires imprégnées de deltaméthrine en concentré émulsifiable à 2,5 % s'avèrent un moyen peu coûteux et efficace : l'effet insecticide se manifeste même en cas de moustiquaire trouée, pendant au moins 6 mois.

Perspectives vaccinales

La mise au point d'un vaccin antipalustre paraît être de plus en plus souhaitable devant l'accroissement de la chimiorésistance. Plusieurs équipes de chercheurs dans le monde mènent actuellement des travaux orientés sur l'identification, la synthèse et l'emploi d'antigènes vaccinaux issus de

l'un des stades de développement parasitaire : sporozoïtes qui sont présents dans les glandes salivaires des anophèles et injectés par piqûre ; mérozoïtes qui pénètrent le globule rouge et se transforment en schizontes responsables des manifestations cliniques ; gamétocytes qui dans le sang sont infectants pour les moustiques.

Un vaccin dirigé contre les sporozoïtes serait le plus avantageux car il préviendrait l'infection. Des sporozoïtes irradiés de *P. falciparum* injectés en grand nombre à des volontaires engendrent pendant plusieurs semaines une immunité protectrice limitée à cette espèce plasmodiale et à ce stade de développement. Expérimentalement, des anticorps monoclonaux dirigés contre une protéine antigénique recouvrant les sporozoïtes (protéine circum sporozoïtaire) empêchent leur pénétration dans des cellules hépatiques cultivées in vitro. Un épitope immunodominant et répétitif, constitué de 4 acides aminés a été identifié et sa synthèse génétique ou chimique réalisée. A ce jour, deux vaccins ont été préparés aux Etats-Unis : l'un compte un polypeptide de 32 épitopes répétitifs obtenu par recombinaison génétique en utilisant *Escherichia coli* ; l'autre est une protéine synthétique comptant 3 épitopes répétitifs. Après une étude chez l'animal, ces vaccins conjugués à un adjuvant (hydroxyde d'aluminium, anatoxine tétanique) se sont révélés bien tolérés par des volontaires et l'évaluation de leur efficacité est en cours. De très nombreux antigènes ont été identifiés au niveau des mérozoïtes et des schizontes endo-érythrocytaires et représentent des candidats potentiels à une vaccination contre le stade érythrocytaire et asexué du parasite. Effectuées dans plusieurs pays, les recherches sont surtout focalisées sur l'identi-

cation des protéines de surface ou des rhoptries des mérozoïtes de façon qu'un vaccin empêche leur pénétration dans les hématies. Dépassant le stade de l'expérimentation in vitro, des essais de vaccination, à ce jour limités, ont été menés chez les singes *Aotus* ou *Saimiri* et ont conféré une immunité protectrice contre une réinfestation par *P. falciparum* selon que celle-ci se pratique avec une souche plasmodiale identique ou différente. Cependant, en dehors de la spécificité encore trop étroite de l'immunité obtenue, l'emploi d'un adjuvant trop toxique pour l'homme (adjuvant complet de Freund) se révèle indispensable. Enfin, dernière voie de vaccination, encore peu explorée, celle d'un vaccin destiné à produire des anticorps antigamètes. Ces anticorps ingérés par l'anophèle en même temps que les gamétocytes inactiveraient dans l'estomac des moustiques les gamètes formés et rendraient la fécondation impossible. Ce vaccin, dit "altruiste" car ne protégeant pas l'individu vacciné, freinerait la transmission et réduirait le niveau d'endémie palustre. Des protéines inductrices d'anticorps ont été identifiées à la surface des gamètes mais de production difficile, l'expérimentation animale est à peine ébauchée.

En conclusion, si les espoirs sont grands de mettre au point à l'avenir un vaccin antipalustre, aujourd'hui aucune date ne peut encore être précisée. Les progrès sont rapides mais, à ce jour, de nombreuses difficultés demeurent : protection de durée limitée et souvent partielle des vaccins mis au point, immunité conférée de spécificité trop étroite, production laborieuse de quantité suffisante d'antigènes vaccinaux. Une fois obtenu un vaccin bien toléré, efficace et peu coûteux, restera encore à résoudre la longue et délicate phase de son application aux populations exposées au paludisme.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - DEBAT-ZOQUERET D. - Etude de la chimiorésistance de *P. falciparum* aux amino-4-quinoléines en Centrafrique. A propos de 80 tests in vivo à l'Hôpital Préfectoral de Bouar. Thèse de Doctorat en Médecine, Bangui, 1987.
- 2 - DIGOL M. - Chimiorésistance de *P. falciparum* aux amino-4-quinoléines. Mémoire de Diplôme de Technicien Supérieur de Santé, Bangui, 1986.
- 3 - DELMONT J., TESTA J., MONGES P., DEBAT-ZOQUERET D., LIMBASSA J., GEORGES A.J., FAUGERES B. - Etat de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* en RCA. Bull. Soc. Pat. Exo. 1987, 80, 434-442.
- 4 - DELMONT J., TESTA J., MONGES P., NGAMA G., DESFONTAINES M., RAVOLLET J.C., LIMBASSA J. - Evaluation de la chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* aux amino-4-quinoléines dans trois villes de la République Centrafricaine. Résultats de 254 tests in vivo réalisés de 1984 à 1986. Bull. liais. doc. OCEAC. 1987, 79, 125-130.
- 5 - DELMONT J., TESTA J., SARDA J., ROUNGOU J.B., DESFONTAINES M. - Situation de la chimiorésistance de *P. falciparum* aux amino-4-quinoléines en République Centrafricaine (1984-1988). Bull. liais. doc. OCEAC 1988, 86, 43-44.
- 6 - DESFONTAINES M., CATHEBRAS P., DELMONT J., TESTA J., BECHEN R., SOMSE P., ROUNGOU J.B.

- Surveillance de l'extension de la chloroquino-résistance de *Plasmodium falciparum* en Centrafrique. A propos de 25 tests in vivo réalisés dans la région de Bangassou. Juillet 1987, Bull. OCEAC, 1987, 82, 45-47.
- 7 - DEBAT-ZOQUERET D., DELMONT J., TESTA J., NGAMA G. Etude in vivo de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* chez des enfants centrafricains. Med. Afr. Noire 1988, XXXV, 2, 101-106.
- 8 - BELEC L., DELMONT J., VESTERS I., TESTA J., CHRISTIAN K.S., GEORGES A.J. - Emergence de paludisme à *Plasmodium falciparum* multirésistant en République Centrafricaine. Press. Med. 1989, 17, 39, 2090-2091.
- 9 - DELMONT J., SIOPATHIS R.M., TESTA J., ROUNGOU J.B., MONGES P., MAMADOU YAYA F. Evaluation de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine chez des enfants centrafricains : bilan de cinq années (1984-1988) d'études par test in vivo. Med. Afr. Noire 1989, XXXVI, 499-500.
- 10 - BELEC L., BOUREE P., TESTA J., DELMONT J., QUENUM B., GEORGES A.J. - Extension of multiple drug resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Africa : report of a Central African case. Biomed and pharmacotherapy (in press).