

Augmentation progressive de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux amino-4-quinoléines sur les Hautes Terres de Madagascar.

R. Milijaona, L. Raharimalala, L. H. Ramambanirina, L. H. Ranaivo & R. Jambou (1) (2)

(1) Laboratoire du paludisme, Institut Pasteur de Madagascar, BP1274, Antananarivo101, Madagascar

(2) Communication MR1996/69. Article non parvenu.

Summary: Progressive increase of resistance of *Plasmodium falciparum* to amino-4-quinoleins in the Highlands of Madagascar

Malaria in Madagascar is one of the first causes of death and hospitalization and remains a real public health problem. Recent research proves that the resistance of the R III type, which is very widespread notably in Central Africa does not yet exist on the Island, even though a decrease in sensitivity of the Malgasy strains of *Plasmodium falciparum* has been reported. A surveillance of the sensitivity to the amino-4-quinoleins has been carried out since 1988 by the malaria laboratory of the Pasteur Institute of Madagascar. Until recent years, the level of resistance had maintained itself at from 10 to 15 % of *In vitro* resistance (Ankazobe region) and from 10 to 35 % of parasitological failure on the seventh day of observation (simplified WHO test). The increase in value of the CI90 *in vitro* of chloroquine was however alarming, although the clinical efficiency of chloroquine was constant.

During the 1995-1996 period of transmission, a new set of tests was carried out in the region of Ankazobe and Moramanga. In both geographically separated zones of stable malaria, 92 isolates of *Plasmodium falciparum* were tested for their sensitivity *in vitro* to Chloroquine (CQ) using the method of the isotopic microtest based on the inhibition of the incorporation of tritium marked hypoxanthine. Out of the 85 isolates which matured well, 57 % were sensitive CQS (CI50<80nM) ; 25 % CQSR (80nM<CI50<120nM) ; and the remaining were classified as resistant. Increased value of CI50 was noted relatively to those registered over the last 5 years. The *in vitro* tests carried out in parallel did however show that all the isolates were sensitive to quinine and mefloquine.

These strains came from 92 patients aged from 2 to 78 years, who had been administered, under medical observation, the standard dose of 25mg/kg of CQ base for three days. The parasitaemia was followed up by pap screen and drops for seven days according to the simplified standard protocol of the WHO. At the end of this study, sixty-four therapeutic successes (or 70 %), ten parasitological failures and four clinical failures were recorded. For fourteen subjects, the observation could not be carried out to the seventh day. When the results of the *in vitro* and *in vivo* tests are compared, four CQS and CSR strains have characteristics of R1 resistance and nine of R2 resistance. Out of the fourteen CQR strains, four had characteristics of R2 resistance, two of R1, and eight were sensitive *in vivo*. In the course of the study, the decrease in sensitivity of the *Plasmodium falciparum* to CQ was frequently noticed among children under 6 years of age who are subject to repeated bouts of malaria. It is thus necessary to keep up the surveillance of chemosensitivity and to foresee immediately relay strategies to amino-4-quinoleins.

Key-words: *Plasmodium falciparum* - Amino-4-quinoleins - Resistance - Madagascar

Mots-clés : *Plasmodium falciparum* - Amino-4-quinoléines - Résistance - Madagascar

Le paludisme, représente à Madagascar une des premières causes de décès et d'hospitalisation et constitue toujours un réel problème de santé publique. Des travaux récents prouvent que la résistance de type R III, si diffusée notamment en Afrique Noire et en Asie n'existe pas encore dans la Grande Ile, bien que la baisse de sensibilité des souches malgaches de *Plasmodium falciparum* ait été rapportée. Une surveillance de la sensibilité aux amino-4-quinoléines est réalisée depuis 1988 par le laboratoire du paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar. Jusqu'à ces dernières années, le niveau de la résistance s'était maintenu à 10 à 15 % de résistance *in vitro* (région d'Ankazobe) et de 10 à 35 % d'échec parasitologique au sep-

tième jour de suivi (test simplifié de l'OMS). L'augmentation de la valeur des CI90 *in vitro* de la chloroquine était tout de même alarmante, bien que l'efficacité clinique de la chloroquine fut cependant constante.

Au cours de la période de transmission 1995-96, une nouvelle série de tests a été réalisée dans la région d'Ankazobe et de Moramanga. On a collecté, dans ces deux zones de paludisme stable géographiquement séparées, 92 isolats de *Plasmodium falciparum* qui ont été testés pour leur sensibilité *in vitro* à la chloroquine (CQ) par la méthode du microtest isotopique basée sur l'inhibition de l'incorporation de l'hypoxanthine marquée au tritium. Sur les 85 isolats qui ont

bien mûr, 57 % ont été sensibles CQS (CI50<80nM) ; 25 % CQSR (80nM<CI50<120nM); et le reste classés résistants. Une augmentation des valeurs de CI50 a été notée par rapport à celles enregistrées depuis 5 ans. Les tests *in vitro* effectués parallèlement ont tout de même montré que tous ces isolats ont été sensibles à la quinine et à la méfloquine.

Ces souches provenaient de 92 patients âgés de 2 à 78 ans, chez lesquels a été administrée, sous contrôle médical, la dose standard de 25mg/kg de CQ base pendant trois jours. La parasitémie a été suivie sur frottis mince et gouttes épaisses pendant 7 jours selon le protocole standard simplifié de l'OMS. A l'issue de cette étude, on a noté soixante quatre succès thérapeutiques (soit 70 %) ; dix échecs parasitologiques et quatre échecs cliniques. Pour quatorze sujets, le contrôle n'a pu être réalisé à J7. En confrontant les résultats des tests *in vitro* et *in*

vivo, quatre des souches CQS et CQSR ont des caractères de résistance R1 et neuf de type R2. Pour les 14 souches CQR, quatre ont des caractères de résistance R2, deux de R1 et huit sont sensibles *in vivo*. Au cours de cette étude, la baisse de sensibilité du *Plasmodium falciparum* à la CQ a été notée fréquemment chez des enfants de moins de 6 ans, qui sont sujets à des accès répétés de paludisme. Il est ainsi nécessaire de maintenir la surveillance de la chimiosensibilité, et de prévoir dès à présent des stratégies de relais aux amino-4-quinoléines.

Commentaire en séance (congrès)

Intervention de M. Brygoo :

Outre son intérêt pratique évident, votre travail m'a beaucoup intéressé pour la raison suivante : les fortes résistances sont polygéniques et résultent de l'acquisition successive de plusieurs gènes de résistance. Les faits que vous avez observés confirment cette conception de la chloroquino-résistance.