

## Chimiosensibilité du Paludisme Importé en France en 2001

\*Jacques Le Bras, Pascal Ralaimazava, Olivier Bouchaud, Virginie Huart, Rémy Durand ;  
 \*\* Bruno Pradines, Annick Keundjian, Daniel Parzy ;  
 §Nadine Godineau, Marie Laure Bigel, Pascal Houzé.

Centre National de Référence de la Chimiosensibilité du Paludisme,

\*Hôpital Bichat Claude Bernard, 75018 Paris, [cnrcp.parasit1@bch.ap-hop-paris.fr](mailto:cnrcp.parasit1@bch.ap-hop-paris.fr) ;

\*\*Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, 13998 Marseille, [imtssa.pra@wanadoo.fr](mailto:imtssa.pra@wanadoo.fr) ;

§Hôpital Delafontaine, 93200 Saint Denis, CHG de Mantes, 78701 et Hôpital Saint Louis, 75010 Paris.

### RESUME

Les autorités sanitaires françaises recommandent aux voyageurs une chimioprévention du paludisme par la chloroquine (C) et le proguanil (P) lors de séjours dans des zones endémiques de pays du groupe 2 et par la méfloquine (M) dans les pays du groupe 3. Un consensus médical (7) recommande l'usage d'un aminoalcool (quinine, méfloquine ou halofantrine) pour le traitement des accès palustres. L'établissement et l'actualisation de ces recommandations impose de connaître la situation de la chimiosensibilité du paludisme importé. En 2001, le Centre de Référence a reçu 615 isolats de *Plasmodium* provenant de 40 hôpitaux de la métropole, *P. falciparum* a été identifié pour 562 souches.

Trois hôpitaux ont envoyé tous leurs isolats (n=416) : pour 86% des patients, la résidence principale est en France et pour 99% des patients, la contamination a eu lieu en Afrique. La Côte d'Ivoire reste le pays de contamination le plus représenté suivi par le Cameroun, le Mali, et le Sénégal. Le délai médian entre le retour de zone impaludée et le diagnostic est de 10 jours pour *P. falciparum* (maximum 307 jours), cette espèce représentant 91% des cas. L'absence de chimioprophylaxie est rapportée par 241 patients (63%), 144 patients ont pris plus ou moins régulièrement un antipaludique, essentiellement de la C, seule (37%), ou associée au P (60%), 31 n'ont pas répondu.

Parmi les 562 cas de *P. falciparum*, 48 patients déclarent avoir pris régulièrement C+P mais seuls 12 des 36 accès déclarés pendant cette chimioprophylaxie correspondent à une concentration plasmatique de C ou de P efficace (7 contaminés dans un pays du groupe 2). En 1998-2001, 55 des 56 isolats de sujets en échec d'une prophylaxie correcte par le P (seul ou associé) présentaient la mutation ponctuelle S108N dans le gène de la DHFR contre 53% parmi les 949 isolats de sujets sans prophylaxie de la même période. Dans 76% des cas aucun traitement n'est pris avant le diagnostic et le traitement prescrit, connu pour 405 cas de *P. falciparum*, est une monothérapie de quinine (60%), d'halofantrine (20%), ou de méfloquine (17%), sauf dans 10 cas qui reçoivent une association d'antipaludiques. Un échec de l'halofantrine et un de la méfloquine sont associés à une résistance de la souche, aucun échec vrai de la quinine n'a été observé. Les fréquences de résistances ont été mesurées sur les isolats non sélectionnés par une chimioprophylaxie. La résistance in vitro à la C est de 30 sur 79 souches en 2001, fréquence inchangée depuis 1991 (44% sur 835 souches). La résistance au P, de fréquence stable depuis 1996, est de 52% sur 1389 souches. La résistance à l'association C+P est de 20% (IC<sub>95</sub> = 11-31%) sur 75 souches en 2001. En 1996-2001, la proportion de résistance à C+P dans le groupe 2 (IC<sub>95</sub> = 9,9-19) est moindre que dans le groupe 3 (IC<sub>95</sub> = 30-47). Vingt et une souches sur 69 ont montré une résistance in vitro à l'atovaquone. Les chiffres observés sont remarquablement similaires à ceux des trois années précédentes, ce qui témoigne de la stabilité du comportement des résidents français voyageant en Afrique qui contractent une infection palustre et probablement de la stabilité des chimiorésistances dans les régions visitées. Les dosages évoquent que les renseignements d'interrogatoire des patients sont fréquemment erronés et/ou que l'autotraitement ou les prises prophylactiques irrégulières ne sont pas toujours déclarés. Il est estimé que 2% des cas de cette étude avaient observé correctement une chimioprophylaxie adéquate. La grande fréquence du paludisme importé en France, consécutive au niveau élevé de transmission dans les régions visitées, est due à la mauvaise observance des mesures de prévention et non à leur inadéquation.

### INTRODUCTION

Environ 7000 cas de paludisme sont observés en France chaque année (1). Ce paludisme, dû essentiellement à *P. falciparum*, est contracté lors d'un voyage en zone d'endémie. Actuellement, la prescription d'une chimioprophylaxie s'appuie sur nos connaissances de la chimiosensibilité des *P. falciparum* : C+P en zone 2, méfloquine en zone 3. Le Centre National de Référence de la Chimiosensibilité du Paludisme (CNRCP) et l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées (IMTSSA) ont pour mission de surveiller l'évolution de la chimiosensibilité du paludisme afin d'optimiser la prévention et le traitement de *P. falciparum*, seule espèce à poser des problèmes de résistance. Ces données permettent l'actualisation des recommandations aux voyageurs (2)

### MATERIELS ET METHODES

#### Isolats

Les isolats de *Plasmodium* proviennent d'hôpitaux français métropolitains et parviennent au CNRCP ou à l'IMTSSA qui contrôlent l'espèce et la parasitémie de chaque isolat. Un recueil des informations épidémiologiques est effectué à l'aide d'une fiche incluant le nom, le prénom, la date de naissance, le pays de résidence, le pays d'origine, le pays d'infestation, la date de retour de zone d'endémie palustre. L'usage ou non d'une chimioprophylaxie, et son observance sont indiqués par le médecin traitant. Ce dernier renseigne sur un éventuel traitement antérieur et sur le traitement prescrit et son efficacité. Les isolats ont été répartis en 3 groupes analysés séparément : 1) dans un but d'épidémiologie descriptive, il a été étudié l'intégralité des isolats de *P. falciparum*, *malariae*, *vivax* et *ovale* reçus par le CNRCP de 3 hôpitaux (Bichat Claude Bernard, St Denis et Mantes) avec confirmation du diagnostic d'espèce (microscopique et, si nécessaire, antigénique ou génomique) ; 2) les isolats provenant de cas d'échec prophylactique ou thérapeutique ont été analysés en vue de déterminer la chimiosensibilité de l'isolat de *P. falciparum* et la concentration plasmatique des antipaludiques ; 3) les isolats provenant de malades n'ayant pas pris d'antipaludique pendant leur voyage ni avant prélèvement

ont été analysés en vue de déterminer la fréquence des résistances de *P. falciparum* sur un échantillon non soumis à sélection (dans le cas des isolats soumis à une chimioprophylaxie connue, la chimiosensibilité n'est déterminée que pour les antipaludiques non impliqués dans la chimioprophylaxie utilisée). Ont été exclus les isolats pour lesquels l'information sur la chimioprophylaxie est incomplète ou manquante.

#### Tests de laboratoire

Quatre tests de laboratoire ont été utilisés :

1. Le diagnostic d'espèce et la densité parasitaire sont confirmés au microscope sur frottis mince et goutte épaisse. Les divergences ou difficultés diagnostiques font l'objet d'une confirmation par étude antigénique (Parasight®, ICT®, Optimal®) ou génomique par PCR (PfDHFR, PfrRNA (5, 3)). Le portage de gamétocytes de *P. falciparum* sans forme asexuée n'est pas retenu pour le diagnostic de paludisme évolutif.
2. La chimiosensibilité du *P. falciparum* à la C, l'amodiaquine (mA), la quinine (Q), l'halofantrine (H), la M, l'atovaquone (At) le cycloguanil (CG) et la pyriméthamine (Py) est mesurée par des tests isotopiques (4). La culture du parasite est délicate et n'est effectuée que si la parasitémie au frottis sanguin est supérieure ou égale à 0,5% (25000 formes asexuées par µL de sang) avec conservation de la morphologie. Les seuils de résistance de ces tests ont été définis statistiquement (moyenne + 2 ET des concentrations inhibitrices 50% (CI<sub>50</sub>) des isolats de succès thérapeutiques). Ils sont, respectivement, 100 nM (C), 60 nM (mA), 6 nM (H), 30 nM (M), 3 nM (At), 800 nM (Q), 500 nM (CG) (annexe 1).
3. Un test génomique est employé pour les antifoliniques (CG et Py) depuis 1996. La présence de la mutation ponctuelle Ser→Asn (S108N) dans le gène de la dihydrofolate réductase est corrélée à la résistance in vitro des isolats de *P. falciparum* à la Py et au CG. Cette technique permet l'étude des prélèvements possédant une faible parasitémie ou présentant des parasites altérés. Une réponse est possible pour 95% des échantillons étudiés et 98% des résistances cliniques et biologiques présentent le génotype S108N (5).

4. Un dosage par chromatographie CLHP des antipaludiques a été effectué sur le plasma des isolats provenant d'un échec prophylactique ou thérapeutique. Les molécules étudiées sont la C, la monodéséthyl-chloroquine (Cm) qui est le métabolite actif de la C, le proguanil (P) qui est un précurseur peu actif, le CG qui est le métabolite actif du P, la méfloquine (MQ). Elles sont détectables à des concentrations inférieures ou égales à 5 µg/L de plasma. Nous considérons que la concentration minimale efficace est de 33 µg/L pour la C (environ 100 µM/L), de 22 µg/L pour le CG (80 µM/L) et de 680 µg/L pour la méfloquine (6, 7).

5. Il a été initié depuis l'année 2000 un nouveau test génomique portant sur *pfcr*, gène central à la résistance à la chloroquine du *Plasmodium falciparum*. La mutation *pfcr*K76T a été détectée par PCR suivie de séquençage(13).

**Tests statistiques**

La distribution de Fischer-Snedecor est utilisée pour déterminer l'intervalle de confiance exact du paramètre p de la loi binomiale de la bi-résistance observée (IC<sub>95</sub>). Les distributions d'effectifs sont analysées avec le test du X<sup>2</sup> corrigé selon Yates.

**RESULTATS**

En 2001, 615 isolats provenant de 40 hôpitaux de la métropole sont parvenus au CNRCP (565) et à l'IMTSSA (50). *P. falciparum* a été identifié pour 562 souches (dont deux associés : 1 avec *P. ovale* et 1 avec *P. malariae*). Le résultat de la chimioprophylaxie a été noté dans 554 cas qui se répartissent en 66 échecs, 325 cas d'absence de chimioprophylaxie et 163 cas de prophylaxies irrégulières.

**Etude sur l'intégralité des cas provenant de trois hôpitaux**

Les hôpitaux Bichat Claude Bernard, Saint Denis et Mantes, qui ont un recrutement stable depuis 1999 (table 1), ont transmis tous leurs isolats. Après vérification parasitologique, 416 isolats de *Plasmodium* ont été identifiés (413 par frottis-goutte épaisse, et 3 par PCR *PfPRNA*). *P. falciparum* reste l'espèce majoritairement retrouvée (tableau 2).

**Patients**

L'âge moyen calculé est de 33 ans [extrêmes : 1 -82 ans] avec dans 58 cas (14 %), un âge inférieur ou égal à 15 ans. Le sex-ratio est de 39 femmes pour 61 hommes. Pour 86% d'entre eux (N=407), la résidence principale est en France ou en Europe. La Côte d'Ivoire (83 isolats) reste le pays le plus représenté suivi par le Cameroun (75 isolats), le Mali (58 isolats), et le Sénégal (48 isolats).

Tableau 1 : description des accès à *Plasmodium* de BCB et St Denis (plus Mantes en 2001)

	1998	1999	2000	2001
Total des cas	324	391	387	416
Age moyen	32	33	33	33
< 15 ans	13%	11%	10%	14%
Sex-ratio	1,5	1,9	1,6	1,5
Résidents France	89%	89%	88%	86%
Pays de contamination :				
Côte d'Ivoire	21%	21%	27%	21%
Cameroun	14%	9%	14%	18%
Mali	10%	14%	13%	14%
Sénégal	11%	8%	12%	12%
Total Afrique	96%	99%	99%	99%

**Délai de survenue**

Tableau 2 : Différentes espèces de *Plasmodium* isolées à BCB et St Denis

Espèces	Nombre (%)			
	1998	1999	2000	2001
<i>P. falciparum</i>	285 (88%)	353 (90%)	336 (87%)	378 (91%)
<i>P. ovale</i>	15 (4,6%)	18 (4,6%)	37 (9,6%)	28 (6,7%)
<i>P. vivax</i>	19 (5,9%)	15 (3,8%)	4 (1%)	4 (1%)
<i>P. malariae</i>	3 (0,9%)	3 (0,9%)	6 (1,6%)	4 (1%)
<i>P. falcip.</i> + <i>P. ovale</i>	0	1 (0,9%)	1 (0,2%)	1 (0,2%)
<i>P. falcip.</i> + <i>P. malariae</i>	1 (0,3%)	1 (0,9%)	2 (0,5%)	1 (0,2%)
<i>P. vivax</i> + <i>P. ovale</i>	1 (0,3%)	0	0	0
<i>P. species</i>	0	0	1 (0,2%)	0
TOTAL	324	391	387	416

Le délai médian entre le retour de zone impaludée et le diagnostic est dans 361 cas de *P. falciparum* de 10 jours (extrêmes 0-307 jours). Pour 27 cas de *P. ovale* le délai médian est de 110 jours (0-464). Pour 4 cas de *P. vivax*

le délai médian est de 89 jours (20 -251). Dans 5 cas de *P. malariae* le délai médian est de 21 jours (7-92).

**Chimioprophylaxie**

Sur les 385 dossiers médicaux renseignés, 241 notent l'absence de prise chimioprophylactique et 144 une prise plus ou moins régulière. L'association C-P (Savarine® ou Nivaquine®+ Paludrine®) est citée par 86 patients (60% des patients ayant pris une CP). La C seule dans 53 cas (37% des cas). Les autres prophylaxies utilisées seules sont, la méfloquine (n=6), le P (n=7), la Py (n=1). Ces deux derniers composés ne sont pas des prophylaxies recommandées par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) (6).

Tableau 3 : chimioprophylaxie avant l'accès à BCB, St Denis et Mantes

Chimioprophylaxie	nombre de cas				
	1998	1999	2000	2001	2002
aucune	179	200	200	233	
Chlor.+ Prog.	52	75	79	86	
Chloroquine	49	49	52	53	
Méfloquine	10	11	8	6	
Proguanil	3	4	9	7	
Pyriméthamine	3	0	4	1	
Sulfadox.+ Pyrim.	0	2	0	0	
Quinine	1	0	0	0	
Inconnue	27	50	35	30	
TOTAL	324	391	387	416	

Les traitements ont évolué depuis 1999 (8) vers une substitution à l'halofantrine de la quinine et de la méfloquine (tableau 4). Une évolution similaire est observée dans les autres hôpitaux.

Tableau 4 : Traitements de *P. falciparum* à BCB, St Denis et Mantes

Traitements	nombre (%)				
	1998	1999	2000	2001	2002
Quinine	47 (33%)	109 (65%)	233 (89%)	179 (57%)	
Halofantrine	121 (85%)	87 (52%)	39 (15%)	69 (22%)	
Méfloquine	4	3	34 (13%)	58 (19%)	
Atovaq.+ Prog.	0	0	1	1	
Chloroquine	0	1	1	1	
Quin. + Halof.	7	3	2	3	
Quin. + Chloro.	1	1	0	0	
Quin. + Cycline	1	0	1	2	
Sulfadox.+ Pyrim.	0	1	1	1	
Quin + S + P	0	0	0	1	
Inconnu	143	186	75	65	
TOTAL	324	391	387	380	

**Etude sur les isolats de *Plasmodium falciparum* provenant d'échecs prophylactiques.**

Nous considérons comme échecs prophylactiques les cas de *P. falciparum* malgré une chimioprophylaxie jugée correcte par les cliniciens : prise quotidienne de C+P ou hebdomadaire de méfloquine jusqu'à 28 jours après le retour, quelque soit la zone. Sont considérés comme échecs vrais ceux de sujets sous prophylaxie confirmés par la présence de concentrations plasmatiques efficaces d'antipaludiques. Sont considérés comme faux échecs les sujets sous chimioprophylaxie n'ayant pas une concentration efficace. Sont considérés comme échecs douteux ceux survenus après l'arrêt de la prophylaxie, soit plus de 28 j après le retour.

L'association C-P est citée dans 125 cas. Quarante huit échecs prophylactiques ont été signalés (annexe 2). Considérant le délai entre le retour et la date de prélèvement :

- trente sept accès palustres sont survenus sous chimioprophylaxie. Ils se répartissent en 9 échecs vrais, 22 faux échecs et 6 non dosés ;
- quatre accès palustres sont survenus moins de 10 jours après l'arrêt de la chimioprophylaxie, 1 noté échec vrai, 2 douteux et 1 non dosé ;
- trois accès palustres sont survenus 10 jours et plus après l'arrêt de la chimioprophylaxie, 2 notés échecs douteux et 1 non dosé. Dans 4 cas, le délai n'est pas connu.

En considérant les années 1998-2001, 55 des 56 isolats testés parmi les échecs vrais d'une prophylaxie par P ou C+P présentaient une mutation ponctuelle S108N dans le gène de la DHFR (9).

La C seule est citée dans 77 cas. Vingt deux échecs prophylactiques ont été signalés (annexe 3). Considérant le délai entre le retour et la date de prélèvement :

- dix sept accès palustres sont survenus sous prophylaxie. Ils comprennent 5 faux échecs, 11 échecs vrais et 1 non dosé ;
- cinq accès palustres sont survenus après l'arrêt de la chimio-prophylaxie, 1 noté échec vrai, 2 douteux et 2 non dosés.

En considérant les années 1998-01, parmi les échecs vrais d'une prophylaxie par C ou C+P, 28 des 40 isolats testés présentaient une résistance lors du test in vitro.

La méfloquine est citée dans 14 cas dont 6 prises irrégulières. Six échecs prophylactiques vrais à la MQ ont été retenus provenant des Comores, de Côte d'Ivoire et du Sénégal. Deux résistances ont été confirmées par la culture de l'isolat. Un échec a été infirmé par le dosage plasmatique.

Le proguanil a été utilisé seul dans 11 cas, 10 prises irrégulières et 1 échec vrai sont constatés après dosage.

**Etude du traitement de l'ensemble des cas**

Traitement antérieur à l'hospitalisation

Sur les 615 cas, 437 fiches renseignent sur un éventuel traitement antérieur. Dans 76% des cas aucun traitement n'est déclaré avant diagnostic cependant que la quinine a été utilisée dans 35 cas, la chloroquine dans 17 cas, l'halofantrine dans 11 cas, la méfloquine dans 10 cas, l'association chloroquine-proguanil dans 2 cas, l'association sulfadoxine-pyriméthamine dans 1 cas, l'association méfloquine-artémisinine dans 1 cas. Il n'est pas possible de déterminer les éventuels échecs thérapeutiques parmi ces cas. Une prise de quinine avant consultation non déclarée a été décelée chez un des malades ayant eu un dosage plasmatique.

Traitement lors de l'hospitalisation

Après diagnostic de paludisme à *P. falciparum*, 405 traitements prescrits à l'hôpital sont connus. Il s'agit d'une monothérapie par la quinine (n=244, 60%), l'halofantrine (n=83, 20%), la méfloquine (n=70, 17%), la chloroquine (n=4). Les associations qui ont été utilisées en première intention sont quinine puis halofantrine (n=6), quinine et doxycycline (n=2), proguanil et atovaquone (n=1), quinine puis sulfadoxine-pyriméthamine (n=1).

Il n'a pas été rapporté d'échec clinique avec la quinine. Pour l'halofantrine, dans un cas, le traitement a été considéré comme un échec clinique lié à une résistance à l'halofantrine. Dans 8 cas une cure unique d'halofantrine a entraîné une rechute, suivie de guérison après traitement secondaire par l'halofantrine (2 cas) ou la quinine (1 cas) (autres non connus) (annexe 5).

Pour les autres espèces que *P. falciparum*, sur les 33 cas renseignés, le traitement prescrit à l'hôpital après diagnostic est la chloroquine dans 18 cas, la quinine dans 8 cas, la méfloquine dans 4 cas, l'halofantrine dans 2 cas et la quinine plus doxycycline dans 1 cas.

**Chimiosensibilité des isolats de *P. falciparum* sans chimioprophylaxie ni traitement avant prélèvement.**

En 2001, il a été réalisé, suivant les critères d'inclusion, 160 tests isotopiques (126 à Paris, 34 à Marseille) ; 41% de ces tests ont présenté un échec de culture lié à la présence de médicament ou à une altération non perçue.

La sensibilité à la quinine de 18 souches a été déterminée, toutes sont sensibles in vitro.

La sensibilité in vitro à l'halofantrine de 18 souches se répartit en 11 sensibles, 4 intermédiaires et 3 résistantes.

La sensibilité à la chloroquine de 79 souches a été déterminée ; 30 souches (38%) ont montré une résistance in vitro [44% entre 1991 et 1998, ref. 12]. La fréquence de résistance à la C dans ces petits échantillons fluctue entre 1996 et 2001 (p=0,45) (tableau 5). En agrégeant les données de 1996 à 2001, la proportion de chloroquino-résistance des pays du groupe 2 (34%) est moindre que celle des pays du groupe 3 (55%) (p=0,01) (tableau 5).

La sensibilité au métabolite actif de l'amodiaquine a été mesurée sur 32 souches, toutes sont sensibles in vitro.

La sensibilité à l'atovaquone a été mesurée sur 69 souches dont 21 ont montré une résistance in vitro.

La sensibilité au CG (métabolite actif du P) a été mesurée sur 99 souches, soit 77 souches par étude génomique, 6 par test isotopique et 16 par les 2 méthodes. Toutes régions confondues, en 2001, le pourcentage de souches présentant la mutation ponctuelle S108N dans le gène DHFR est de 52%. La résistance au CG n'évolue pas entre 1996 et 2001 (p=0,7) (tableau 5). En 2001, en fonction des groupes définis par le CSHPF, la proportion de résistance au CG est moindre dans le groupe 2 que dans le groupe 3 (p<0,001) (tableau 5). En agrégeant les données de la chimiorésistance de 1996 à 2001, la résistance au CG dans le groupe 2 est de 40% et dans le groupe 3 de 69%.

La sensibilité à la fois à la C et au CG a été mesurée sur 75 souches. En 2001, la fréquence observée de bi-résistance est de 20% (IC<sub>95</sub> = 11-31%) et la fréquence attendue en effectuant le produit des taux de C-résistance et de CG-résistance est de 20%. Cette fréquence fluctue entre les petits échantillons de 1996 à 2000 (p=0,09) (tableau 5). En 1996-2000, la proportion de bi-résistance observée est moindre dans le groupe 2 que dans le groupe 3 (p<0,001). Pour les six années écoulées, la proportion de bi-résistance observée est de 14% [IC<sub>95</sub> 9,9-19] dans les pays du groupe 2 et de 38% [IC<sub>95</sub> 30-47] dans les pays du groupe 3 (tableau 5).

Tableau 5. Evolution, en fonction des groupes de pays définis par le CSHPF, du taux de résistance à la chloroquine, au cycloguanil, et de bi-résistance des isolats de *P. falciparum* importés d'Afrique en France entre 1996 et 2001 et non soumis à sélection médicamenteuse adressés au CNRCP et à l'IMTSSA.

	% d'isolats résistants* (nombre testé)						TOTAL [IC <sub>95%</sub> ]
	1996	1997	1998	1999	2000	2001	
<b>R-Chloroquine</b>							
Groupe-2	43% (44) <sub>NS</sub>	34% (32) <sub>NS</sub>	34% (53) <sub>NS</sub>	23% (47) <sub>NS</sub>	43% (44) <sub>NS</sub>	27% (51) <sub>NS</sub>	34% [28-40] (271)
Groupe 3	58% (26)	63% (41)	57% (53)	35% (34)	58% (19)	61% (28)	55% [48-62] (201)
<b>R-Cycloguanil</b>							
Groupe 2	42% (198) <sub>NS</sub>	39% (136) <sub>S</sub>	40% (168) <sub>SS</sub>	38% (162) <sub>SS</sub>	42% (198) <sub>SS</sub>	34% (61) <sub>SS</sub>	40% [37-43] (923) <sub>SS</sub>
Groupe 3	57% (54)	67% (122)	67% (127)	72% (111)	73% (114)	79% (38)	69% [66-73] (566)
<b>R-Chloroquine et Cycloguanil</b>							
Groupe-2	19% (42) <sub>NS</sub>	14% (26) <sub>NS</sub>	15% (49) <sub>NS</sub>	7,7% (45) <sub>NS</sub>	19% (42) <sub>NS</sub>	4,6% (49) <sub>NS</sub>	14% [9,9-19] (253) <sub>SS</sub>
Groupe-3	33% (21)	50% (17)	38% (47)	25% (31)	42% (19)	49% (26)	38% [30-47] (161)
Total	22% (63)	28% (43)	23% (96)	14% (76)	26% (61)	20% (75)	22% [19-26] (414)*

\* ajustement de Fischer-Snedecor      <sub>NS</sub> = différence non significative, <sub>S</sub> = p < 0,01 et <sub>SS</sub> = p < 0,001 entre groupes      \*non significatif entre années

**DISCUSSION**

Il est observé des fluctuations mais pas d'augmentation de la proportion d'isolats résistants à la chloroquine entre 1991 et 2001 dans le paludisme d'importation (11, données présentées). Ces fluctuations sont également observées en zone d'endémie (Dielmo, annexe 5). Il a été montré qu'une CI<sub>50</sub> > 100 nM était un marqueur satisfaisant de l'échec thérapeutique de la C chez le sujet non immun non traité avant l'isolement de la souche (4). Dans notre série limitée, quelques échecs vrais sont

observés avec des souches sensibles. Il a été montré que le gène *Pfcr*, présentait une mutation au codon 76 pour tous les isolats de phénotype C résistant (9). Cependant, des isolats de phénotype C-sensible présentaient également la mutation, ce qui limite l'intérêt de ce marqueur pour identifier la résistance à la C (8).

La différence significative entre la proportion de souches présentant la mutation ponctuelle S108N dans le gène DHFR dans la population non soumise à chimioprophylaxie ou à un traitement antérieur (52%) et celle

parmi les échecs d'une prophylaxie par P ou C+P (98%), confirme qu'il existe une relation entre la mutation ponctuelle et la résistance au CG. Après une augmentation significative de la résistance au CG jusqu'en 1997 (11), elle semble stabilisée depuis à la fréquence de 14% en zone 2 et de 38% en zone 3. Un équilibre entre la pression médicamenteuse de sélection et un moindre potentiel reproducteur du génotype mutant pourrait expliquer cette stabilité. La résistance à la C est indépendante de celle au CG dans tous les pays, ce que confirment les remarquables similitudes entre le produit des fréquences de résistance à chaque composé et la fréquence de bi-résistance observée (tableau 6). La pression conjointe exercée par l'usage de la C associée à un antifolinique (P ou Py) n'a donc pas eu d'effet de majoration de la bi-résistance, sauf peut-être aux

Comores et au Gabon. Depuis 1996, il n'a pas été mis en évidence d'augmentation de la bi-résistance (C et CG) entre les années. L'efficacité attendue de la prophylaxie C+P pour les voyageurs est en moyenne de 86% dans les pays du groupe 2 et de 62% dans les pays du groupe 3. L'efficacité attendue de la prophylaxie par la méfloquine que nous avons déterminée de façon similaire en 1995-97 était de 91,5% en Afrique (11). L'association prophylactique C+P (ainsi que l'usage thérapeutique C+Py) ne semblent pas exercer actuellement de pression sélective de co-résistance observable en Afrique francophone. L'étude de la bi-résistance à la C et au CG montre une disparité entre les pays (12) (tableau 6). Il a été précédemment montré que la résistance à la méfloquine était sporadique et sans regroupement géographique (11).

Tableau 6. Pays classés par ordre de fréquence croissante de la proportion d'isolats de *P. falciparum* résistants à la chloroquine et au cycloguanil en l'absence de chimioprophylaxie, dans le paludisme importé d'Afrique et d'Océan Indien en France entre 1996 et 2001 (pays du groupe 3 en grisé).

	Chloroquino-R	Cycloguanilo-R	% de bi-résistance <sup>a</sup>		
	% (n)	% (n)	théorique <sup>b</sup>	observé	Interv. conf. 95%
Madagascar	0 (6)	15 (20)	0	0	0 - 46
Mauritanie	25 (4)	23 (13)	5,8	5,8	0 - 66
<b>Mali</b>	<b>38 (47)</b>	<b>18 (157)</b>	<b>6,8</b>	<b>6,7</b>	<b>1,4 - 18</b>
Burkina Faso	25 (12)	32 (34)	8,1	11	0,6 - 42
<b>Côte d'Ivoire</b>	<b>34 (113)</b>	<b>38 (324)</b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>6,4 - 20</b>
R.Centre-Afrique	28 (18)	51 (49)	14	12	22- 36
<b>Sénégal</b>	<b>31 (67)</b>	<b>46 (171)</b>	<b>14</b>	<b>17</b>	<b>8,9 - 28</b>
RI des Comores	40 (25)	41 (93)	16	21	4,6 - 49
Guinée	50 (10)	54 (39)	27	24	4,3- 60
Ghana	40 (5)	69 (16)	27	29	2,1 - 78
Ex Zaïre	42 (12)	81 (47)	34	31	8,8 - 63
Bénin	57 (14)	77 (66)	44	35	9,4- 70
Congo	56 (16)	80 (60)	45	44	20 - 70
Kenya	68 (9)	63 (16)	42	48	16 - 82
<b>Cameroun</b>	<b>61 (67)</b>	<b>80 (183)</b>	<b>49</b>	<b>50</b>	<b>36 - 64</b>
Togo	57 (7)	89 (36)	51	52	15 - 88
Gabon	93 (14)	67 (39)	62	66	31 - 91
<b>Total importé<sup>c</sup></b>	<b>43 (472)</b>	<b>51 (1489)</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>19 - 26</b>

cycloguanil-R : *PfDHFR* S108N ; chloroquino-R :  $CI_{50} > 100$  nmol L<sup>-1</sup> ; <sup>a</sup>Résistance aux deux molécules associées ; <sup>b</sup>Produit de la fréquence de résistance à chaque composé ; <sup>c</sup> y compris les pays non cités.

L'analyse des échantillons de paludisme d'importation et de terrain effectuée à l'IMTSSA ou au CNRCP fournit des taux de résistance par pays similaires (cf. annexe 5). Néanmoins, elle ne permet pas à elle seule, de classer les pays en groupe 2 et groupe 3. L'étude de la résistance à la C d'une part et au CG d'autre part est nécessaire afin de pouvoir évaluer l'efficacité des deux molécules en fonction du pays. Dans le cas où une résistance élevée (> 50%) à une des deux molécules est trouvée, il nous paraît souhaitable de classer le pays en groupe 3 (ex. Guinée). Inversement, un pays devrait être placé dans le groupe 2 si moins de 50% de résistance à l'un des deux composés et moins de 25% de résistance à l'association est constaté (ex. Comores). Il est probable que la disparité de fréquence des résistances se décline à tous les niveaux d'échelle, comme l'intensité de la transmission vectorielle, à laquelle elle est liée. Des augmentations focales de chimiorésistance sont périodiquement observées en Afrique (ex. Harper, Dielmo). Ces situations sont souvent associées à une augmentation de morbidité et mortalité. Il n'a pas été montré d'élévation globale du niveau de C-R d'une région ou d'un pays d'Afrique de l'Ouest.

L'interrogatoire du patient est la méthode subjective la plus utilisée et la seule qui permette de recueillir à la source une information. De ce fait la formulation des questions et les conditions de recueil jouent toutes deux un grand rôle. Les dosages plasmatiques permettent 1) d'éliminer de l'analyse épidémiologique les souches provenant de patients qui disent ne pas avoir pris de chimioprophylaxie ni de traitement mais dont le prélèvement met en évidence la présence d'antipaludique ; 2) d'individualiser, dans l'analyse des échecs prophylactiques, les défauts d'observance ; on constate en 1998-2001 qu'il n'est pas trouvé une concentration plasmatique efficace dans plus des 2/3 des échecs chimioprophylactiques dits à observance correcte (26/38). L'observance chez les sujets prenant de la méfloquine semble supérieure et la majorité des échecs sont confirmés par le dosage de cette molécule. Il a été observé 3 sujets présentant des taux élevés de C et de P et des taux faibles ou nuls de leurs métabolites, ce qui témoigne probablement d'essais d'autotraitement avec le médicament prophylactique alors qu'il n'était pas

pris régulièrement. Le dosage des antipaludiques ne permet cependant pas de déterminer avec certitude l'échec prophylactique en l'absence d'information sur l'heure de la dernière prise compte tenu de la variabilité pharmacocinétique interindividuelle. Pour la chloroquine, une prise unique de 300 mg peut être détectable dans le plasma 10 jours à 4 semaines après la prise selon les individus. La connaissance de la date du retour a permis de définir un certain nombre d'échecs prophylactiques comme étant des paludismes d'expression clinique tardive (plus de 6 semaines après le retour). Ainsi, dans ces cas particuliers, la chloroquine, qui n'a pas d'activité prophylactique causale, n'est plus en quantité suffisante pour avoir un rôle prophylactique. Il n'a pas été observé de défaut de métabolisation du proguanil pouvant expliquer un échec prophylactique. Le coût élevé de ces dosages empêche qu'ils soient proposés systématiquement.

Les échecs thérapeutiques documentés sont rares, quel que soit l'antipaludique utilisé en France. En fait, ils sont difficiles à mettre en évidence et certains dossiers manquent d'information sur les indicateurs d'échecs (posologie non connue, rythme de prise non connu, parasitémie à J3, J7 et de contrôle de guérison (entre J28 et J35) non effectués. Néanmoins, compte tenu des réserves émises sur l'utilisation de l'halofantrine lors d'une conférence de consensus (8), la surveillance des résistances à tous les antipaludiques disponibles s'impose, en particulier pour les nouveaux venus, la Malarone®, et le Riamet® (artémether-luméfânine).

**CONCLUSION**

Les données du CNRCP indiquent en 2001 une stabilité de la chimio-résistance du paludisme d'importation dans les zones d'où proviennent en plus grand nombre les isolats reçus. Il serait déraisonnable d'exclure de la chimioprophylaxie l'association chloroquine-proguanil, peu coûteuse et bien tolérée car la résistance simultanée à ces deux composés n'augmente pas entre 1996 et 2001. Pour le traitement de première intention de l'accès

simple de paludisme à *Plasmodium falciparum*, l'halofantrine est délaissée au profit d'une monothérapie par la quinine ou la méfloquine. Pour ces molécules, la résistance est rare en Afrique et sans évolution au cours des 15 dernières années. La principale origine du paludisme d'importation est le défaut d'observance de la chimioprophylaxie et les échecs thérapeutiques sont le plus souvent dus à un défaut d'observance du traitement prescrit. La prophylaxie et le traitement du paludisme à *P. falciparum* sont compliqués par l'absence de médicaments constamment efficaces et bien tolérés. Un suivi clinique et biologique rigoureux s'impose pour renforcer nos connaissances sur les antipaludiques utilisés en France et assurer la sécurité de leur prescription.

Nous remercions vivement les médecins et biologistes qui ont pris soin de nous transmettre les isolats et les renseignements ayant permis cette étude.

**BIBLIOGRAPHIE**

- Legros F, Danis M. Paludisme en France métropolitaine en 1998. *Bull. Centre National de Référence des Maladies d'Importation*, 15-21 rue de l'école de médecine, 75270 Paris Cedex 06, 1999, 15: 1-113.
- Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Recommandations sanitaires pour les voyageurs. *Bull. Epidémiol Hebdom*, 2000, 25 : 107.
- Qari SH, Shi YP, Pieniazek NJ, Collins WE, Lal AA. Phylogenetic relationship among the malaria parasites based on small subunit rRNA gene sequences: monophyletic nature of the human malaria parasite, *Plasmodium falciparum*. *Mol Phylogenet Evol*, 1996, 6: 157-165
- Le Bras J, Ringwald P. Situation de la chimiorésistance de *P. falciparum* en Afrique en 1989. *Med Trop*, 1990, 50: 11-16.
- Durand R, Ramiliarisoa O, Sécardin Y, de Pécoulas PE, Basco LK, Le Bras J. DHFR gene point mutation as a predictor of *P. falciparum* resistance to cycloguanil in malaria cases from Africa imported to France. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1997, 91 : 460-461.
- Touze JE, Keundjian A, Fusaï T, Doury JC. Human pharmacokinetics of chloroquine and proguanil delivered in a single capsule for malaria chemoprophylaxis. *Trop Med Parasitology*, 1995, 46 : 158-160.
- Pennie RA, Koren G, Crevoisier C. Steady state pharmacokinetics of mefloquine in long-term travelers. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1993, 87: 459-462.
- XIIème Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse de la société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *P. falciparum*. *Méd Mal Infect*. 1999, 29: 375-379.
- Durand R, Jafari S, Vauzelle J, Delabre JF, Jesic Z, Le Bras J. Analysis of *Pfcr* point mutations and chloroquine susceptibility in isolates of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol*, 2001, 114: 95-102.
- Bickii J, Basco LK, Ringwald P. Assessment of three in vitro tests and an in vivo test for chloroquine resistance in *P. falciparum* clinical isolates. *J Clin Microbiol*, 1998, 36: 243-247.
- Durand R, Di Piazza JP, Longuet C, Sécardin Y, Clain J, Le Bras J. Increased incidence of cycloguanil resistance in malaria cases entering France from Africa, determined as point mutations in the parasites' dihydrofolate-reductase genes. *Ann Trop Med Parasitol*, 1999, 93: 25-30.
- Le Bras J, Durand R, Di Piazza JP, Pradines B, Longuet C, Parzy D. Prise en compte des disparités de résistance de *P. falciparum* en Afrique dans la décision chimioprophylactique. *Presse Med*. 1998, 27: 1419-1423.
- Durand R, Jafari S, Bouchaud O, Ralaimazava P, Keudjian A, Le Bras J, *Plasmodium falciparum* : *pfcr* and DHFR mutation are associated with Chloroquine Proguanil Prophylaxis Failures in travelers. *J. Inf Dis* 2001, 184 : 1633-1634.

**ANNEXE 1**

**Seuils de résistance des antipaludiques en nmol/L**

<b>chloroquine</b>	(S) 80 < (I) > 110 (R)	Le Bras J, P. Ringwald. <i>Med. Trop.</i> , 1990, 50: 11-162.
<b>cycloguanil</b>	(S) 50 < (I) > 500 (R)	Basco LK et al. <i>Am J Trop Med Hyg</i> , 1994, 50, 193-9.
<b>pyriméthamine</b>	(S) 100 < (I) > 2000 (R)	Basco LK et al. <i>Am J Trop Med Hyg</i> , 1994, 50, 193-9.
<b>méfloquine</b>	(S) 20 < (I) > 40 (R)	Hatin I et al.. B. <i>World Health Organ</i> . 1992, 70, 363-7.
<b>halofantrine</b>	(S) 4 < (I) > 6 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> , 1992, 47, 521-27.
<b>quinine</b>	(S) 500 < (I) > 800 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>An Trop Med Parasitol</i> , 1994, 88, 131-36
<b>md-amodiaquine</b>	(S) 60 < (I) > 80 (R)	Le Bras J et al. <i>Bull. Soc. Pathol. Exot.</i> , 1987, 80, 477-489.
<b>amopyroquine</b>	(S) 15 < (I) > 20 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> , 1993, 48, 120-25
<b>atovaquone</b>	(S) 1 < (I) > 3 (R)	Basco LK et al. <i>Am J Trop Med Hyg</i> , 1995, 53, 388-91
<b>pyronaridine</b>	(S) 5 < (I) > 10 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>An. Trop. Med Parasitol.</i> , 1992, 86, 447-54.
<b>dihydro-artémisinine</b>	(S) 5 < (I) > 10 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> , 1993, 49, 301-7
<b>luméfantrine</b>	(S) 100 < (I) > 150 (R)	Pradines B et al. <i>Antimicrob Agents Chemother</i> , 1999 43: 418-20

(S) = sensible, (I) = indéterminé, (R) = résistant.

ANNEXE 2

Analyse des prélèvements diagnostiques de sujets en échec chimioprophylactique de chloroquine-proguanil (*P. falciparum*, 2001).

N° du prélèvé <sup>1</sup>	Pays de contage	Délai (j) entre retour et prélèvement	Parasitémie (%)	CI <sub>50</sub> C (nM) ou codon CRT <sub>76</sub>	CI <sub>50</sub> CG (nM) ou codon DHFR <sub>108</sub>	Dosage plasmatique <sup>a</sup>				Echec
						C	Cm	P	Cy	
701390445	Sen	25	3,8000	NE	NE		non	dosé		?
701200336	Upv	34	8,2000	T	N		non	dosé		?
701400101	Ivc	16	0,4500	K	S	<2	<2	<2	<2	FAUX
701440415	Sen	10	0,1900	TK	S	<2	<2	<2	<2	FAUX
701480176	Cae	72	0,0100	TK	N	<2	<2	<2	<2	FAUX
701490166	Sen	2	2,5000	TK	N	34	5	<2	<2	FAUX
8518	Cae	3	<0,01	NE	NE	297	315	0	0	FAUX
8566	Cae	14	0,7	T	N	39	12	0	0	FAUX
8608	Upv	4	0,6	<25 ; T	997 ; N	121	25	0	0	FAUX
9666	Cae	8	0,03	NE	NE	0	0	0	0	FAUX
9795	pdr	38	<0,01	TK	NE	0	0	0	0	FAUX
9847	pdr	28	<0,01	T	N	115	51	0	0	FAUX
9848	Ben	19	1	T	N	49	24	0	0	FAUX
701290327	Cng	4	3,1000	T	N	49	10	0	0	FAUX
701330335	Mai	2	0,1800	K	S	0	0	0	0	FAUX
701360098	Mai	8	2,0000	TK	N	0	0	0	0	FAUX
701360399	Sen	5	12,0000	22,8 ; K	S	0	0	0	0	FAUX
701370225	Ivc	15	0,0120	TK	N/S	133	76	0	0	FAUX
701380363	Gha	6	1,6000	NE	NE	32	8	0	0	FAUX
701390405	Ivc	26	0,1800	NE	NE	122	49	0	0	FAUX
701260169	Mai	45	0,0001	NE	N	134	0	49	0	FAUX
701330325	Cae	5	0,3500	T	N	0	0	0	0	FAUX
701350191	Cae	26	1,0000	T	N	34	9	0	0	FAUX
701350462	Sen	1	0,0100	T	N	204	81	0	0	FAUX
701360178	Mai	4	0,8000	T	N	45	22	0	0	FAUX
701370027	Sen	12	3,5000	T	N	30	5	0	0	FAUX
701380327	Ivc	2	1,7000	23,7 ; K	S	0	0	0	0	FAUX
701380382	Ben	46	0,0800	TK	N/S	0	0	0	0	FAUX
701470135	Mai	20	0,3000	NE	NE	0	0	0	0	FAUX
701400007	Upv	21	0,4000	NE	NE	92	35	<2	<2	FAUX
701070586	Mai	ND	1,0000	T	N	892	225	443	0	DOUTEUX
701410452	Ivc	34	0,0200	K	S	6	4	0	0	DOUTEUX
701350454	Cae	33	0,0700	TK	N	27	9	0	0	VRAI?
701380165	Gui	ND	0,0003	NE	N	14	3	18	2	VRAI ?
701470100	Gui	1	0,4000	NE	NE	118	44	46	82	VRAI
701360353	Ivc	8	0,0100	TK	N	69,5	24	33	5	VRAI
701390320	Ivc	17	0,5000	NE	N	166	47	22	11	VRAI
701400452	Sen	1	0,0500	T	N	80	50	85	13	VRAI
701060343	Ivc	ND	0,0016	T	N	236	110	81	11	VRAI
701130323	Gui	15	0,0600	T	N	428	44	85	0	VRAI
701200221	Cae	10	0,3000	TK	N	261	74	225	34	VRAI
701310289	Gha	6	0,0900	TK	N	141	48	73	21	VRAI
701330255	Gha	ND	0,5600	T	N	240	103	75	33	VRAI
701350150	Cae	16	0,0016	TK	N	55	74	93	6	VRAI
701020363	Gui	19	1,0000	T	N/S	44	11	31	2	VRAI
701330085	Ben	10	0,0900	NE	N	55	28	18	8	VRAI
701450475	Tog	18	0,1250	NE	N	49	20	37	5	VRAI
701370087	Afr	24	0,2300	T	N	140	58	116	20	VRAI

<sup>a</sup> concentration (µg L<sup>-1</sup>) de chloroquine (C), proguanil (P), monodesethylchloroquine (Cm), cycloguanil (Cy), 0= absence d'antipaludique ; <sup>b</sup> concentration supposée résiduelle ; <sup>c</sup> autotraitement ; Ne = non étudié, Nd = non déterminé.

## ANNEXE 3

Analyse des prélèvements diagnostiques de sujets en échec chimioprophylactique à la chloroquine (*P. falciparum*, 2001).

N° du prélèvement	Pays de contage	Délai en jours entre retour et prélèvement	Parasitémie	CI <sub>50</sub> C et/ou <i>Pfcr1</i> muté	Dosage plasmatique <sup>a</sup>				Echec
					C	Cm	P	Cy	
701100435	Zai	63	0,005	NE	Non dosé				?
701470139	Mai	45	0,400	TK	<2	<2	2	2	FAUX
701070563	Com	15	0,500	T	48	20	37	22	FAUX
701220237	Cae	10	0,600	309	0	0	0	0	FAUX
701350067	Com	12	1,700	NE	0	0	0	0	FAUX
701380351	Sen	31	65,000	20,1	0	0	0	0	FAUX
701390540	Mai	2	0,030	NE	0	0	0	0	FAUX
701380171	Ivc	2	1,600	NE	19	4	0	0	FAUX ?
701070548	Sen	86	1,700	NE	0	0	0	0	DOUTEUX
701400128	Sen	2	0,030	NE	20	17	0	0	VRAI ?
701020462	Ivc	23	0,220	T	22	11	0	0	VRAI ?
701040424	Cae	6	0,600	211 ; T	64	45	0	0	VRAI?
701080257	Gab	15	0,050	K	321	275	199	121	VRAI?
701470104	Ben	138	3,500	T	89	12	0	0	VRAI?
701020298	Gab	6	1,950	224	75	65	0	0	VRAI
701320417	Cae	0	0,300	T	428	185	0	0	VRAI
701350079	Sen	0	0,005	TK	124	92	0	0	VRAI
701370474	Ivc	11	1,300	NE	244	113	0	0	VRAI
701370525	Mai	10	0,100	TK	30	5	0	0	VRAI
701380172	Com	11	0,020	NE	27	11	0	0	VRAI
701510322	Cae	19	0,500	117	52	14	0	0	VRAI
701390411	Sen	4	15,000	T	145	45	0	0	VRAI

<sup>a</sup> concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) de chloroquine (C), proguanil (P), monodesethylchloroquine (Cm), cycloguanil (Cy), 0= absence d'antipaludique ; nd = non déterminé.

## ANNEXE 4

Analyse des prélèvements diagnostiques de sujets en échec chimioprophylactique à la méfloquine (*P. falciparum*, 2001).

N° du prélèvement	Pays de contage	Délai en jours entre retour et prélèvement	Parasitémie	CI <sub>50</sub> MQ	Dosage plasmatique <sup>a</sup>		Echec
					Mq	cMq	
9545	Cae	11	<0,01	NE	0	0	FAUX
9546	Cae	10	<0,01	NE	375	946	VRAI
701390446	Sen	30	0,2000	20	125	180	VRAI
9082	Sen	46	1,4	57	753	2255	VRAI
701160083	Cae	48	0,0800	NE	304	567	VRAI
701240152	Afr	57	1,7000	NE	684	1420	VRAI
9600	Ivc	15	0,5	NE	122	37	VRAI

<sup>a</sup> Mq, cMq = concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) de méfloquine et carboxyméfloquine, 0= absence d'antipaludique ; nd = non déterminé.

**ANNEXE 5****Observations d'échecs thérapeutiques****Échec prophylactique à la méfloquine**

**Souche** 9082 : patient de 45 ans d'origine française. Revient en France le 23/01/2001 après un séjour de 10 jours au Sénégal, prophylaxie correcte par méfloquine (1 semaine avant départ et 4 après retour). Le 10/03/2001, le patient est adressé à l'hôpital et présente une parasitémie de 2,5%. Traitement par quinine 8mg/kg 3 fois/j pendant 3j. Dès J2 parasitémie à 0,05%. Profil de la souche : CI<sub>50</sub> MQ 57 nM ; Mq 753 µg/l ; cMq 2245 µg/l. Conclusion : échec vrai à la méfloquine.

**Echec thérapeutiques à l'halofantrine**

**Souche** M9966 : Patient de 50 ans d'origine française. Présente un 1<sup>er</sup> accès palustre sans prophylaxie à Cuba traité par halofantrine. Retour en France. Hospitalisé le 10/12/2001 pur un second accès palustre. Profil souche : CI<sub>50</sub> HF 14,1 nM (confirmée 3 fois) ; CI<sub>50</sub> CQ 55 nM ; CI<sub>50</sub> Q 557 nM ; CI<sub>50</sub> MQ 31 nM ; CI<sub>50</sub> Ato 4,2 nM ; CI<sub>50</sub> CY > 20000 nM ; CI<sub>50</sub> PY > 40000 nM ; Conclusion : Echec vrai à l'halofantrine.

**Souche** N/36/0399 : Jeune enfant de 3 ans, d'origine africaine revenant d'un voyage au Sénégal le 31/08/01, amené à l'hôpital par ses parents pour fièvre et diarrhée 5 jours après le retour. Pendant le séjour, l'enfant avait pris une chimioprophylaxie par l'association de chloroquine et proguanil régulièrement. La parasitémie est revenue positive à 12% de *P. falciparum*. Un traitement par l'halofantrine a été donné. Le 25/09/01, l'enfant est ramené à l'hôpital pour de la fièvre avec une parasitémie à 0,2% de *P. falciparum*. Une deuxième cure d'halofantrine a été donnée, sans notion de rechute ultérieure.

Profil de la souche : CI<sub>50</sub>CQ:22.8nM ; CI<sub>50</sub>HF : 1.76Nm ; CI<sub>50</sub>ATO : 0.8nM ; Fr108 : S ; rt76 : K  
Conclusion : Pas d'argument en faveur d'un échec thérapeutique.

**Souche** N/37/0027 : Garçon de 16 ans ayant séjourné au Sénégal, revenu en France le 25/08/01. Il dit avoir pris une chimioprophylaxie par de la Savarine® régulièrement. Il se présente à l'hôpital pour de la fièvre et des maux de tête, la parasitémie est positive à 3,5% de *P. falciparum*. Un traitement par de l'halofantrine à été donné. Le 24/09/01 il revient à l'hôpital avec les mêmes symptômes et une parasitémie à 0,2%. Une deuxième cure par de l'halofantrine à été donné avec une évolution favorable.

Profil de la souche : CI<sub>50</sub>CQ: nf ; CI<sub>50</sub>HF : nf ; Fr108 : N ; rt76 : T  
Conclusion : Pas d'argument en faveur d'un échec thérapeutique.

**Souche** C/40/0453 : Jeune fille de 17 ans, originaire d'Afrique, résidant en France. Revient d'un voyage au Sénégal le 08/09/01. Pendant le séjour elle a pris une chimioprophylaxie par de la Savarine® de façon irrégulière. Le jour de son retour, elle se présente pour une fièvre, la parasitémie est positive à 2,9% de *P. falciparum*. Une cure par de l'halofantrine à été donné. Le 03/10/01 elle revient à l'hôpital avec de la fièvre et une parasitémie positive à 1,75% de *P. falciparum*. Une deuxième cure par de l'halofantrine à été donné.

Profil de la souche : nd  
Conclusion : Pas d'argument en faveur d'un échec thérapeutique.

**Souche** L/43/0819 : Patient de 53 ans, d'origine française revenant d'un séjour au Burkina Faso le 06/10/01. Sans chimioprophylaxie. Il se présente à l'hôpital le 19/10/01 avec de la fièvre et une parasitémie à 0,02% de *P. falciparum*. Une cure d'halofantrine à été prescrite. Le 07/11/01, il revient à l'hôpital avec une fièvre et la parasitémie est à 0,7% de *P. falciparum*.

Profil de la souche : nd  
Conclusion : Pas d'argument en faveur d'un échec thérapeutique.

**Souche** S/36/0055 : Enfant de 11 ans d'origine africaine. Revient d'un voyage au Sénégal le 20/08/01. Chimioprophylaxie par de la Paludrine®, prise de façon irrégulière. Le 01/09/01, il se présente à l'hôpital pour fièvre, la parasitémie est positive à *P. falciparum*. Traitement par une cure d'Halfan®. Le patient revient 7 jours plus tard pour récurrence avec une parasitémie à 4,5% de *P. falciparum*.

Profil de la souche : nd  
Conclusion : Peu d'argument en faveur d'un véritable échec thérapeutique.

**Souche** D/37/0445 : Rechute d'un cas de paludisme après une cure d'Halfan®, chez un enfant de 12 ans au retour d'un voyage au Sénégal. Qui a fait un premier accès à 3,2% de *P. falciparum*. Sans chimioprophylaxie. Profil de la souche : nd

Conclusion : pas de données suffisant pour argumenter l'échec thérapeutique.

**Souche** M/38/0495 : Rechute d'un cas de paludisme après une cure d'Halfan®, chez un enfant de 1 an au retour d'un voyage aux Comores. Qui a fait un premier accès à 2,7% de *P. falciparum* 8 jours après le retour. Une chimioprophylaxie par l'association chloroquine a été prise mais de façon irrégulière. Profil de la souche : nd

Conclusion : pas de données suffisant pour argumenter l'échec thérapeutique.

**Souche** M/38/051 : Rechute d'un cas de paludisme après une cure d'Halfan®, chez un enfant de 1 an au retour d'un voyage au Sénégal. Qui a fait un premier accès à *P. falciparum* 31 jours après le retour. Une chimioprophylaxie par l'association chloroquine a été prise mais de façon irrégulière. Profil de la souche : CI<sub>50</sub>CQ: 20nm/l ; CI<sub>50</sub>QU : 100nm/l ; CI<sub>50</sub>HF : 0.62nm/l ; Fr108 : nd ; rt76 : nd

Conclusion : pas de données suffisant pour argumenter l'échec thérapeutique.

**Echec thérapeutiques à la quinine**

**Souche** B/38/0382 : Un jeune homme de 16 ans, d'origine française, revenu d'un séjour au Bénin le 04/08/01, se présente à l'hôpital pour une fièvre le 14/08/01. Pendant le séjour, il a pris une chimioprophylaxie par de la Savarine® régulièrement. La parasitémie est positive à 0,09% de *P. falciparum*. Un traitement par de la quinine pendant 7 jours a été donné. Il revient avec les mêmes symptômes le 19/09/01 et une parasitémie à 0,08% de *P. falciparum*. Le traitement par la quinine a été repris avec une suite favorable.

Test de chimiosensibilité : CI<sub>50</sub>CQ: nf ; CI<sub>50</sub>HF : nf ; Fr108 : intermédiaire ; rt76 : TK  
Conclusion : Peu d'argument en faveur d'un véritable échec thérapeutique sous réserve d'une bonne observance.

## ANNEXE 6

Pays classés par ordre de fréquence croissante de la proportion d'isolats de *P. falciparum* résistants à la chloroquine et au cycloguanil dans le paludisme étudié sur le terrain entre 1996 et 2001 (pays du groupe 3 en grisé) (données CNRCP & IMTSSA).

	Cycloquano- R % (n)	Chloroquino- R % (n)	Bi-résistance <sup>a</sup>		
			% théorique <sup>b</sup>	% observé	Interv. conf .95%
Djibouti 1999	4 (25)	93 (27)	3,7		
Burkina Faso : BoboDioulasso 1996-99	15 (46)	32 (75)	4,8	En cours	
Côte d'Ivoire : Bingerville 1996, 98, 99	33 (61)	27 (64)	8,9	En cours	
Niger : Niamey 2001	25 (20)	42 (26)	10,5	En cours	
Sénégal : Dielmo, Ndiop Pikine 1996	26 (179)	51 (163)	13	En cours	
Sénégal : Dielmo, Ndiop 1997	48 (75)*	59 (76)**	28	En cours	
Sénégal : Dielmo, Ndiop 1998	32 (69)*	27 (71)**	8,6	En cours	
Sénégal : Dielmo, Ndiop 1999	56 (54)*	55 (53)**	31	En cours	
Gabon : Libreville 1997	38 (78)	90 (63)	34	En cours	
Gabon : Libreville 1999	48 (27)	95 (102)	46	En cours	
Gabon : Port Gentil 1999	64 (10)	81 (15)	52	En cours	
Thaïlande : Shoklo 1992-98	100 (28)	96 (28)	96	NE	
Congo : Pointe Noire 1999	87 (23)				
Liberia : Harper 2000	84 (25)				
Congo : Brazzaville 2001	82 (51)				
RD Congo : Kinshasa 2001	95 (96)				
Comores : Mayotte 2000	47 (32)				

cycloguanil-R : *PfDHFR* S108N ; chloroquino-R :  $CI_{50} > 100 \text{ nmol L}^{-1}$  ; <sup>a</sup> résistance aux deux molécules associées ; <sup>b</sup> produit de la fréquence de résistance à chaque composé. Différence entre années : \*NS, \*\*p=0,02