

## Chimiosensibilité du Paludisme Importé en France en 2002

\*Jacques Le Bras, Pascal Ralaimazava, 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 CNRCP,  
 \*Hôpital Bichat Claude Bernard, 75018 Paris, cnrcp.parasit1@bch.ap-hop-paris.fr ;  
 \*\*Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, 13998 Marseille, 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 l'association chloroquine-proguanil ou atovaquone-proguanil lors de séjours dans des zones endémiques de pays du groupe 2 et par la méfloquine ou l'atovaquone-proguanil dans les pays du groupe 3. Un consensus médical recommande l'usage de la quinine, de la méfloquine, de l'halofantrine ou de l'atovaquone-proguanil pour le traitement des accès palustres. L'établissement de ces recommandations impose de connaître la situation de la chimiosensibilité du paludisme importé. En 2002, le Centre de Référence a reçu 642 isolats de *Plasmodium* provenant de 36 hôpitaux de la métropole, *P. falciparum* a été identifié dans 586 prélèvements.

Trois hôpitaux ont envoyé tous leurs isolats (n=412) : pour 91% des patients, la résidence principale est en France et pour 99% des patients, la contamination a eu lieu en Afrique. Le Cameroun est le pays de contamination le plus représenté suivi par la Côte d'Ivoire, 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 265 jours), cette espèce représentant 91% des cas. L'absence de chimioprophylaxie est rapportée par 229 patients (62%), 137 patients ont pris plus ou moins régulièrement un antipaludique : chloroquine-proguanil (55%), chloroquine (30%), méfloquine (6%), pyriméthamine (6%), 46 n'ont pas répondu.

Parmi les 586 cas de *P. falciparum*, seuls 8 des 39 accès déclarés pendant une chimioprophylaxie chloroquine-proguanil déclarée prise régulièrement correspondent à une concentration plasmatique de chloroquine et de proguanil efficace. En 1998-2002, 59 des 60 isolats de sujets en échec d'une prophylaxie correcte par le proguanil (seul ou associé) présentaient la mutation ponctuelle S108N dans le gène de la DHFR contre 51% parmi les isolats de sujets sans prophylaxie de la même période. Dans 81% des cas aucun traitement n'est pris avant le diagnostic et le traitement prescrit, connu pour 494 cas de *P. falciparum*, est une monothérapie de quinine (57%), de méfloquine (19%), d'halofantrine (18%) ou une bithérapie (6%). Des échecs de la quinine (n=5), de l'halofantrine (n=4) et de la méfloquine (n=1) sont observés, sans confirmation d'une résistance. Deux sujets sont décédés.

Les fréquences de résistances ont été mesurées sur les isolats non sélectionnés par une chimioprophylaxie. La résistance in vitro à la chloroquine est de 55 sur 133 isolats en 2002, fréquence inchangée depuis 1991 (44% sur 1105 isolats). La résistance au métabolite actif du proguanil, le cycloguanil, est de fréquence stable depuis 1996 : 51% sur 1619 isolats. La résistance à la chloroquine + cycloguanil est de 22% (IC<sub>95</sub> = 20-24%) sur 519 isolats en 1996-2002 et cette proportion est moindre dans les pays du groupe 2 (IC<sub>95</sub> = 10-17%) que dans ceux du groupe 3 (IC<sub>95</sub> = 32-45%). Les chiffres observés sont remarquablement similaires à ceux des six années précédentes, ce qui témoigne de la stabilité du comportement des voyageurs qui contractent le paludisme et ne met pas en évidence d'évolution des chimiorésistances dans les régions visitées. Les dosages évoquent que les renseignements d'interrogatoire des patients sont fréquemment erronés. Il est estimé que 2% des cas de cette étude ont contracté le paludisme malgré une chimioprophylaxie adéquate : 7 par la chloroquine-proguanil en zone 2 et 2 par la méfloquine en zone 3. 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.

**Mots clés :** paludisme, importation, prophylaxie, traitement, résistance.

### 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 sensibilité aux antipaludiques des *P. falciparum* : atovaquone-proguanil (A+P) ou chloroquine-proguanil (C+P) en zone 2, A+P ou méfloquine (M) en zone 3. Le Centre National de Référence de la Chimiosensibilité du Paludisme (CNRCP) a 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'établissement des recommandations aux voyageurs par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) [2].

### MATERIELS ET METHODES

#### Isolats

Les isolats de *Plasmodium* proviennent d'hôpitaux français métropolitains et parviennent au CNRCP qui contrôle 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 chimio-prophylaxie, 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.sp.* reçus par le CNRCP de 3 hôpitaux (Bichat Claude Bernard, St Denis et Mantes) avec confirmation du diagnostic (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 (ICTnow®, Optimal®) ou génomique par PCR (*PfDHFR*, *PfPrRNA* [3, 4]). 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 chloroquine (C), la Q (Q), l'halofantrine (H), la méfloquine (M), l'atovaquone (A) le cycloguanil (Cy), la pyriméthamine (Py) et la doxycycline (Do) est mesurée par des tests isotopiques [5]. 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 diminution de sensibilité 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), 6 nM (H), 30 nM (M), 7 nM (A), 800 nM (Q), 500 nM (Cy) [annexe 1].
3. Un test génomique est employé pour les antifoliniques (Cy et Py), la C et l'A. 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 Cy. La présence de la mutation ponctuelle Lys→Thr (K76T) dans le gène du transporteur associé à la résistance à la C est associée à la résistance in vitro des isolats de *P. falciparum* à la C. La présence de la mutation ponctuelle Tyr→Ser (Y268S) dans le gène du cytochrome B a été rapportée comme associée

à la résistance à l'A. 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 à Py-Cy ou C présentent le génotype *PfDHFR* S108N ou *PfCRT* K76T, respectivement [3, 6].

4. Un dosage par chromatographie CLHP des antipaludiques a été effectué sur le plasma des isolats. Les molécules étudiées sont la C et son métabolite actif déséthyl (Cm), le P (peu actif) et son métabolite actif le Cy, la MQ et son métabolite débutyle, l'A, la Q, l'amodiaquine et son métabolite actif déséthyl. 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 Cy (80 µM/L) et de 680 µg/L pour la M [7, 8].

**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 2002, 642 isolats provenant de 36 hôpitaux de la métropole sont parvenus au CNRCP nord (n=580) et sud (n=62). *P. falciparum* a été identifié pour 586 isolats (dont neuf associés : 5 avec *P. malariae*, 3 avec *P. ovale* et 1 avec *P. vivax*). Le résultat de la chimioprophylaxie a été noté dans 562 cas qui se répartissent en 334 cas d'absence de prophylaxie, 144 cas de prophylaxies irrégulières et 84 cas de prophylaxies régulières.

**Description exhaustive des cas de trois hôpitaux**

Les hôpitaux Bichat Claude Bernard (BCB), Saint Denis et Mantes, qui ont un recrutement stable depuis 1999 (tableaux 1 et 4), ont transmis tous leurs isolats. Après vérification parasitologique, 412 isolats de *Plasmodium* ont été identifiés (408 par frottis-goutte épaisse, et 4 par PCR). *P. falciparum* reste l'espèce majoritairement retrouvée (tableau 2).

**Patients**

L'âge moyen calculé est de 33 ans (extrêmes : 1 -71 ans) avec dans 47 cas (11 %), un âge inférieur ou égal à 15 ans. Le sex-ratio est de 40 femmes pour 60 hommes. Pour 91% d'entre eux (n=369), la résidence principale est en France ou en Europe. Le Cameroun (84 isolats) est le pays le plus représenté suivi par La Côte d'Ivoire (75 isolats), le Mali (61 isolats), et le Sénégal (38 isolats).

Tableau 1 : description des cas de *Plasmodium* de BCB et St Denis (+Mantes depuis 2001)

	1999	2000	2001	2002
Total des cas	391	387	416	412
Age moyen	33	33	33	33
< 15 ans	11%	10%	14%	11%
Sex-ratio	1,9	1,6	1,5	1,5
Résidents France	89%	88%	86%	91%
Pays de contamination :				
Côte d'Ivoire	21%	27%	21%	19%
Cameroun	9%	14%	18%	21%
Mali	14%	13%	14%	15%
Sénégal	8%	12%	12%	10%
Total Afrique	99%	99%	99%	99%

Tableau 2 : Espèces de *Plasmodium* isolées à BCB et St Denis (+Mantes depuis 2001)

Espèces	Nombre (%)			
	1999	2000	2001	2002
<i>P. falciparum</i>	353 (90%)	336 (87%)	378 (91%)	371 (91%)
<i>P. ovale</i>	18 (4,6%)	37 (9,6%)	28 (6,7%)	20 (4,8%)
<i>P. vivax</i>	15 (3,8%)	4 (1%)	4 (1%)	7 (1,7%)
<i>P. malariae</i>	3 (0,9%)	6 (1,6%)	4 (1%)	6 (1,5%)
<i>P. falcip.</i> + <i>P. ovale</i>	1 (0,9%)	1 (0,2%)	1 (0,2%)	1 (0,2%)
<i>P. falcip.</i> + <i>P. vivax</i>	0	0	0	1 (0,2%)
<i>P. falcip.</i> + <i>P. malariae</i>	1 (0,9%)	2 (0,5%)	1 (0,2%)	4 (1%)
<i>P. species</i>	0	1 (0,2%)	0	2 (0,4%)
TOTAL	391	387	416	412

**Délai de survenue**

Le délai médian entre le retour de zone impaludée et le diagnostic, connu dans 368 cas de *P. falciparum*, est de 10 jours (extrêmes 0-265 jours). Pour 18 cas de *P. ovale* le délai médian est de 89 jours (0-915). Pour 7 cas de *P. vivax* le délai médian est de 99 jours (15-444). Dans 5 cas de *P. malariae* le délai médian est de 40 jours (29-95).

**Chimioprophylaxie**

Sur les 371 dossiers médicaux renseignés, 229 notent l'absence de prise chimioprophylactique et 142 une prise plus ou moins régulière. L'association C-P (Savarine® ou Nivaquine® + Paludrine®) est citée par 76 patients (54% des patients ayant pris une CP). La C seule dans 41 cas (37% des cas). Les autres prophylaxies utilisées seules sont, la M (n=9), l'A+P (n=1), le P (n=1), la Py (n=9), l'H (n=1). Ces deux derniers composés ne sont pas des prophylaxies recommandées par le CSHPF [2].

Tableau 3 : chimioprophylaxie avant l'accès à BCB et St Denis (+Mantes depuis 2001)

Chimioprophylaxie	nombre de cas				
	1998	1999	2000	2001	2002
aucune	179 (55%)	200 (51%)	200 (52%)	233 (56%)	229 (56%)
chlor.+ proguanil	52	75	79	86	76
chloroquine	49	49	52	53	41
méfloquine	10	11	8	6	9
atovaq.+ proguanil	0	0	0	0	1
proguanil	3	4	9	7	1
pyriméthamine	3	0	4	1	9
sulfadox.+ pyrim.	0	2	0	0	0
halofantrine	0	0	0	0	1
quinine	1	0	0	0	0
inconnue	27	50	35	30	37
TOTAL	324	391	387	416	412

Les traitements ont évolué depuis 1999 [9] vers une substitution à l'H de la Q et de la M (tableau 4). Une évolution similaire est observée dans les autres hôpitaux.

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

Traitements	nombre (%)				
	1998	1999	2000	2001	2002
quinine	47 (33%)	109 (65%)	233 (89%)	179 (57%)	219 (61%)
halofantrine	121 (85%)	87 (52%)	39 (15%)	69 (22%)	45 (12%)
méfloquine	4	3	34 (13%)	58 (19%)	78 (22%)
atovaq.+ proguanil	0	0	1	1	11 (3%)
chloroquine	0	1	1	1	2
quin. + méfloqu.	0	0	0	0	2
quin. + halof.	7	3	2	3	0
quin. + chloro.	1	1	0	0	0
quin. + cycline	1	0	1	2	0
sulfadox.+ pyrim.	0	1	1	1	0
quin + S + P	0	0	0	1	0
inconnu	143	186	75	65	17
TOTAL	324	391	387	380	377

**Etude de la chimio prophylaxie de l'ensemble des cas de *Plasmodium falciparum*.**

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

L'absence de chimioprophylaxie est déclarée par 301 sujets en accès palustre, ce qui est vrai pour 93% des 142 contrôles effectués par dosage sanguin.

L'association C-P est citée dans 115 cas. Quarante huit échecs prophylactiques ont été signalés [annexe 2]. En considérant le délai entre le retour et la date de prélèvement :

- trente huit accès palustres sont survenus sous chimioprophylaxie. Ils se répartissent en 7 échecs vrais, 26 faux échecs et 5 non dosés ;

- huit accès palustres sont survenus moins de 10 jours et un plus de 10 jours après la date recommandée d'arrêt de la chimioprophylaxie ; dans un cas, le délai n'est pas connu.
- En considérant les années 1998-2002, 59 des 60 isolats testés parmi les échecs vrais d'une prophylaxie par P ou C+P présentaient l'haplotype *PfDHFERS* 108N et *PfCRT* 76T [6].

La C seule est citée dans 62 cas. Dix sept échecs prophylactiques ont été signalés [annexe 3]. Considérant le délai entre le retour et la date de prélèvement :

- quinze accès palustres sont survenus sous prophylaxie. Ils comprennent 10 faux échecs, 5 échecs vrais et un non dosé ;
- deux accès palustres sont survenus après l'arrêt de la chimioprophylaxie, notés échec douteux.

La M est citée dans 13 cas dont 9 prises irrégulières. Trois échecs prophylactiques vrais à la M ont été retenus provenant du Cameroun, de Côte d'Ivoire et du Togo. Un échec a été infirmé par le dosage sanguin chez un sujet porteur d'un isolat de sensibilité diminuée [annexe 4].

La Py (Daraprim®), déconseillée, est citée dans 9 cas.

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

Traitement antérieur à l'hospitalisation

Sur les 642 cas, 461 fiches renseignent sur un éventuel traitement antérieur. Dans 81% des cas aucun traitement n'est déclaré avant diagnostic mais 10 des 153 contrôles par dosage plasmatique révèlent des prises non déclarées d'amodiaquine (n=5), de P(n=3) et de Q (n=2) avant consultation. Parmi les autotraitements déclarés, la C a été utilisée dans 27 cas, la Q dans 25 cas, l'H dans 14 cas, la M dans 6 cas, l'association Q-doxycycline dans 3 cas, l'association sulfadoxine-pyriméthamine dans 1 cas, l'association M + artémisinine dans 1 cas, l'A+P dans 1 cas, l'artésunate dans 2 cas. Il n'est pas possible de déterminer les éventuels échecs thérapeutiques parmi ces cas.

Traitement lors de l'hospitalisation

Après diagnostic de paludisme à *P. falciparum*, 494 traitements prescrits à l'hôpital sont connus. Il s'agit d'une monothérapie par la Q (n=280, 57%), l'H (n=91, 18%), la M (n=92, 19%), la C (n=5). Les associations qui ont été utilisées en première intention sont l'A+P (n=11), la Q et la clindamycine (n=7), la Q puis la M (n=4), la Q et la doxycycline (n=1), la Q puis l'A+P (n=2), la Q puis la C (n=1), la Q puis l'H (n=1), la C puis la M (n=2).

L'efficacité thérapeutique a été jugée selon les critères d'évaluation clinico-biologique de la chimiorésistance en zone de faible endémie palustre de l'OMS [10] : ETP = échec thérapeutique précoce (fièvre et parasites à 72h), ETT = échec thérapeutique tardif (fièvre et parasites entre J7 et J28), RCPA = réponse clinique et parasitologique adéquate à J28. Les résultats figurent dans le tableau 5, les échecs sont détaillés en annexe 5.

Pour les espèces autres que *P. falciparum*, sur les 48 cas renseignés, le traitement prescrit à l'hôpital après diagnostic est la Q dans 22 cas (2 RCPA, 2 abs ETP, 18 non suivis), la C dans 10 cas (1 RCPA, 2 abs ETP, 7 non suivis), l'H dans 9 cas, la M dans 6 cas et l'A+P dans 1 cas (tous non suivis).

Tableau 5 : Réponse aux traitements de *P. falciparum*

Tableau 6. 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 2002 et non soumis à sélection médicamenteuse adressés au CNRCP.

	% d'isolats résistants* (nombre testé)							TOTAL [IC <sub>95%</sub> ]
	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	
<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>	26% (66) <sub>S</sub>	32% [27-37] (337) <sub>SS</sub>
Groupe 3	58% (26)	63% (41)	57% (53)	35% (34)	58% (19)	61% (28)	58% (59)	56%[54-66] (261)
<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>	32% (128) <sub>NS</sub>	39% [36-42] (1053) <sub>SS</sub>
Groupe 3	57% (54)	67% (122)	67% (127)	72% (111)	73% (114)	82% (38)	75% (68)	70% [67-72] (634)
<b>R-Chloroquine et Cycloguanil</b>								
Groupe-2	21% (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>	16% (56) <sub>NS</sub>	13% [10-17] (312) <sub>SS</sub>
Groupe-3	33% (21)	50% (17)	38% (47)	25% (31)	42% (19)	49% (26)	43% (46)	39% [32-45] (207)
Total	22% (63)	28% (43)	23% (96)	14% (76)	20% (61)	20% (75)	23% (102)	22% [20-24] *(519)

\* ajustement de Fischer-Snedecor

NS = différence non significative, S = p < 0,01 et SS = p < 0,001 entre groupes

\*non significatif entre années

Traitements	nombre					
	Décès	ETP	ETT	abs ETP	RCPA	non suivis
quinine	2	4	2	78	20	175
halofantrine	0	0	4	6	0	81
méfloquine	0	1	0	9	0	82
atovaq.+ prog.	0	0	0	5	4	2

abs ETP = pas de fièvre ni parasites à 72h

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

En 2002, il a été réalisé, suivant ces critères d'inclusion, 248 tests isotopiques (207 à Paris, 41 à Marseille) ; 38% de ces tests ont présenté un échec de culture lié à une altération non perçue ou à la présence d'un antipaludique dans le plasma : l'échec est plus fréquent pour 47 isolats renfermant un antipaludique que pour 93 n'en renfermant pas (p=0,03).

La sensibilité à la Q de 34 isolats a été déterminée, un (origine Afr, n°10505) a une diminution de sensibilité in vitro.

La sensibilité in vitro à la M de 29 isolats a été étudiée, tous sont sensibles.

La sensibilité in vitro à l'H de 33 isolats a été étudiée, tous sont sensibles.

La sensibilité à la C de 133 isolats a été déterminée : 55 isolats (41%) ont montré une résistance in vitro (44% entre 1991 et 1998 [11]). La fréquence de résistance à la C dans ces petits échantillons fluctue entre 1996 et 2002 (tableau 6). En agrégeant les données de 1996 à 2002, la proportion de chloroquino-résistance des pays du groupe 2 (32%) est moindre que celle des pays du groupe 3 (56%) (p<10<sup>-6</sup>) (tableau 6). Tous les isolats résistants ou de CI<sub>50</sub>>60nM testés (n=47) présentent l'allèle mutant *PfCRT* 76T seul et 42 des 49 isolats sensibles de CI<sub>50</sub><60nM testés présentent l'allèle K76, seul ou associé à 76T.

La sensibilité à l'A a été mesurée sur 122 isolats dont 14 ont montré une diminution de sensibilité in vitro. Aucun des 21 isolats de sensibilité faible testés ne présente de mutation sur le gène *PfCytbc1*.

Un des 12 isolats étudiés vis-à-vis de la Py est sensible, un des 12 isolats étudiés vis-à-vis du Cy est sensible La sensibilité au Cy a été mesurée sur 151 isolats, soit 130 isolats par étude génomique et 12 par les 2 méthodes. Toutes régions confondues, en 2002, le pourcentage d'isolats présentant la mutation ponctuelle S108N dans le gène *PfDHFRR* est de 52%. La résistance au Cy n'évolue pas entre 1996 et 2002 (p=0,15) (tableau 6). En 2002, en fonction des groupes définis par le CSHPF, la proportion de résistance au Cy est moindre dans le groupe 2 que dans le groupe 3 (p<10<sup>-6</sup>) (tableau 6). En agrégeant les données de la chimiorésistance de 1996 à 2002, la résistance au Cy dans le groupe 2 est de 39% et dans le groupe 3 de 70%.

La sensibilité à la fois à la C et au Cy a été mesurée sur 102 isolats. En 2002, la fréquence observée de bi-résistance est de 23% (IC<sub>95</sub> = 13-31%) et la fréquence attendue en effectuant le produit des taux de C-résistance et de Cy-résistance est de 19%. Cette fréquence fluctue entre les petits échantillons de 1996 à 2002 (p=0,1) (tableau 6). En 1996-2002, la proportion de bi-résistance observée est moindre dans le groupe 2 que dans le groupe 3 (p<0,0001). Pour les sept années écoulées, la proportion de bi-résistance observée est de 13% (IC<sub>95</sub> 10-17) dans les pays du groupe 2 et de 39% (IC<sub>95</sub> 32-45) dans les pays du groupe 3 (tableau 6).

**DISCUSSION**

Il est observé des fluctuations mais pas d'augmentation de la proportion d'isolats résistants à la C entre 1991 et 2002 dans le paludisme d'importation [11, tableau 6]. Ces fluctuations sont également observées en zone d'endémie (Dielmo, annexe 6). Il a été montré qu'une CI<sub>50</sub> supérieure à 100 nM de C sur un isolat prélevé avant traitement était un marqueur satisfaisant de l'échec clinique de la C chez le sujet non immun [5]. On ne retrouve pas l'allèle sauvage du codon 76 du gène *PfCRT* dans ces isolats ni dans ceux de CI<sub>50</sub>>60 nM ; 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 [12].

La différence significative entre la proportion d'isolats présentant la mutation ponctuelle S108N dans le gène *PfDHFR* 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 Cy.

Après une augmentation significative de la résistance au Cy jusqu'en 1997 [13], elle semble stabilisée depuis à la fréquence de 39% en zone 2 et de 70% 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 Cy, ce que confirment les remarquables similitudes entre le produit des fréquences de résistance à chaque composé et la fréquence de bi-résistance observée (tableau 7). 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 au Sénégal. Depuis 1996, il n'a pas été mis en évidence d'augmentation de la bi-résistance à C et Cy entre les années. L'efficacité moyenne attendue de la prophylaxie C+P pour les voyageurs est de 87% dans les pays du groupe 2 et de 61% dans les pays du groupe 3 avec une disparité entre les pays (tableau 7). L'efficacité attendue de la prophylaxie par la M que nous avons déterminée de façon similaire en 1995-97 était de 91,5% en Afrique où la résistance à la M est sporadique et sans regroupement géographique [11].

Tableau 7. 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 2002 (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 (13)	13 (23)	0	0	0 - 24
R.Centre-Afrique	17 (17)	50 (48)	8,8	5,7	0,3 - 26
Mali	33 (63)	17 (170)	5,7	6,2	2,0 - 14
Mauritanie	40 (5)	29 (14)	11	6,7	0 - 67
Burkina Faso	19 (16)	32 (38)	5,9	8,7	0,9 - 36
Côte d'Ivoire	31 (129)	38 (408)	12	11	6,9 - 17
Guinée	39 (13)	48 (44)	18	17	3,5 - 43
Sénégal	34 (82)	47 (188)	16	20	13 - 29
RI des Comores	50 (41)	44 (117)	22	24	12 - 41
Ghana	40 (5)	71 (17)	28	29	3,5 - 74
Ex Zaïre	43 (14)	81 (48)	35	30	11 - 62
Bénin	53 (15)	76 (58)	40	32	15 - 61
Togo	50 (8)	87 (38)	43	46	16 - 85
Kenya	67 (9)	63 (16)	42	48	19 - 82
Congo	64 (22)	81 (63)	51	49	29 - 70
Cameroun	61 (95)	81 (213)	49	50	41 - 61
Gabon	93 (15)	67 (42)	62	66	37 - 91
<b>Total importé<sup>c</sup></b>	<b>41 (598)</b>	<b>51 (1619)</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>20 - 24</b>

cycloguanil-R : *PfDHFR* S108N ; chloroquino-R : CI<sub>50</sub> > 100 nmol L<sup>-1</sup> ; <sup>a</sup>Résistance simultanée aux deux molécules ; <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 étudiés au CNRCP fournit des taux de résistance par pays similaires [tableau 7, 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 Cy 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. Centre Afrique). 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 (aucun pays sur la période 1996-2002). 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-résistance 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 d'éliminer de l'analyse épidémiologique les isolats 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 ; ils permettent également d'individualiser, dans l'analyse des échecs prophylactiques, les défauts d'observance. On constate en 1998-2002 qu'il n'est pas trouvé une concentration plasmatique efficace dans deux échecs chimio prophylactiques dits à observance correcte sur trois (n=63/96).

L'observance chez les sujets prenant de la M semble supérieure et 3 des 4 échecs ont une concentration plasmatique efficace. 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 C, 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 accès palustres d'expression clinique tardive (7% plus de 6 semaines après un séjour à risque sans autre voyage déclaré). Ainsi, dans ces cas particuliers, la C, 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 P pouvant expliquer un échec prophylactique.

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 et rythme de prise non connus, contrôles de parasitémie à J3, J7 et J28 non effectués). L'utilisation de la norme OMS pour définir les échecs [10] serait une simplification utile mais elle reste à valider pour les zones sans transmission. La surveillance d'efficacité de tous les antipaludiques disponibles s'impose, en particulier pour les nouveaux venus, la Malarone® (atovaquone-proguanil), et le Riamet® (artémether-luméfanine).

## CONCLUSION

Les données du CNRCP indiquent en 2002 une stabilité de la chimio-résistance du paludisme importé des pays francophones d'Afrique. L'association chloroquine-proguanil, peu coûteuse et bien tolérée, garde son indication prophylactique car la résistance simultanée à ces deux composants n'augmente pas entre 1996 et 2002. 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 méfloquine ou la quinine dont l'efficacité est satisfaisante. L'usage de l'atovaquone-proguanil débute. Pour la quinine et la méfloquine, la résistance est rare en Afrique et sans évolution notable. 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 de recueillir et de contrôler les renseignements ayant permis cette étude. Les étudiants hospitalo-universitaires en Pharmacie qui ont assuré le suivi thérapeutique des patients ont eu un rôle important dans le contrôle d'efficacité des traitements.

## BIBLIOGRAPHIE

- Legros F, Danis M, Noireau E. Caractéristiques épidémiologiques du paludisme d'importation en France métropolitaine (CNRMI, données 1999-2000). *Bull. Centre National de Référence des Maladies d'Importation*, 2002, 16-17 (disponible sur le site ANOFEL)
- Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Recommandations sanitaires pour les voyageurs. *Bull. Epidémiol Hebdom*, 2002, 24 : 111-19 (disponible sur <invs.sante.fr>).
- 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.
- 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, Jafari S, Bouchaud O, Ralaimazava P, Keudjian A, Le Bras J, *Plasmodium falciparum* : pfcr1 and DHFR mutation are associated with chloroquine proguanil prophylaxis failures in travelers. *J. Inf Dis* 2001, 184 : 1633-1634.
- Touze JE, Keudjian 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 (disponible sur <infectiologie.com>).
- OMS. Monitoring antimalarial resistance. WHO/CDS/CSR/EPH/2002.17 (disponible sur <who.int/csr/resources/publications>).
- 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, Vauzelle J, Delabre JF, Jesic Z, Le Bras J. Analysis of *Pfcr1* point mutations and chloroquine susceptibility in isolates of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol*, 2001, 114: 95-102.
- 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.

## ANNEXE 1

### Seuils de diminution de sensibilité in vitro de *P. falciparum* aux antipaludiques en nmol/L

chloroquine	(S) 80 < (I) > 100 (R)	Le Bras J, P. Ringwald. <i>Med. Trop.</i> , 1990, 50: 11-162.
cycloguanil	(S) 50 < (I) > 500 (R)	Basco LK et al. <i>Am J Trop Med Hyg</i> , 1994, 50, 193-9.
pyriméthamine	(S) 100 < (I) > 2000 (R)	Basco LK et al. <i>Am J Trop Med Hyg</i> , 1994, 50, 193-9.
méfloquine	(S) 20 < (I) > 30 (R)	Hatin I et al. <i>B. World Health Organ</i> . 1992, 70, 363-7.
halofantrine	(S) 4 < (I) > 6 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> , 1992, 47, 521-27.
quinine	(S) 500 < (I) > 800 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>An Trop Med Parasitol</i> , 1994, 88, 131-36
md-amodiaquine	(S) 60 < (I) > 80 (R)	Le Bras J et al. <i>Bull. Soc. Pathol. Exot.</i> , 1987, 80, 477-489.
amopyroquine	(S) 15 < (I) > 20 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> , 1993, 48, 120-25
atovaquone	(S) 5 < (I) > 7 (R)	Gay F et al. <i>Am J Trop Med Hyg</i> , 1997, 56, 315-7.
pyronaridine	(S) 5 < (I) > 10 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>An. Trop. Med Parasitol.</i> , 1992, 86, 447-54.
dihydro-artémisinine	(S) 5 < (I) > 10 (R)	Basco LK, J. Le Bras. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> , 1993, 49, 301-7
luméfantrine	(S) 100 < (I) > 150 (R)	Pradines B et al. <i>Antimicrob Agents Chemother</i> , 1999 43: 418-20

(S) = sensible, (I) = indéterminé, (R) = résistant. Les études d'efficacité prophylactique et thérapeutique ont validé le seuil des deux premières molécules comme seuil de résistance clinique, les autres seuils ne sont pas considérés en 2003 comme prédictifs d'échec clinique.

**ANNEXE 2**

**Analyse des prélèvements diagnostiques de sujets déclarant une prise prophylactique correcte de chloroquine-proguanil (*P. falciparum*, 2002)**

N° du prélè <sup>v</sup>	Pays de contage	Zone	Délai (j) entre retour et prélèvement	Parasitémie (%)	CI <sub>50</sub> C (nM) ou PfCRT <sub>76</sub> muté	CI <sub>50</sub> Cy (nM) ou PfDHFR <sub>108</sub> muté	Dosage plasmatique <sup>a</sup>				Echec
							C	Cm	P	Cy	
10001	-		29	0,1	519	51,3 ; sauvage	ne	ne	ne	ne	-
702270058	ivc	2	20	0,05	ne	ne	ne	ne	ne	ne	-
702270402	cae	3	4	2,5	146 ; muté	muté	ne	ne	ne	ne	-
702350382	sen	2	2	0,2	en cours	en cours	ne	ne	ne	ne	-
702370217	com	3	11	0,01	sauvage	en cours	ne	ne	ne	ne	-
702380074	ivc	2	33	0,035	muté	en cours	ne	ne	ne	ne	-
702460041	sen	2	15	1,0	muté	sauvage	ne	ne	ne	ne	-
10039	tog	3	15	1,8	en cours	muté	9,6	<5	<5	<5	FAUX
10344	com	3	2	0,1	197	muté	<5	<5	<5	<5	FAUX
10345	com	3	2	<0,01	en cours	muté	<5	<5	<5	<5	FAUX
702020178	cae	3	3	0,3	55,4 ; muté	1083 ; mut/sauv.	<5	<5	<5	<5	FAUX
702020180	gui	2	6	9,0	105 ; muté	1377 ; mut/sauv.	<5	<5	<5	<5	FAUX
702180142	cae	3	15	0,02	en cours	en cours	190	25	<5	<5	FAUX
702300115	ivc	2	14	3,8	en cours	muté	195	54	<5	<5	FAUX
702310093	ivc	2	17	0,1	en cours	muté	<5	<5	<5	<5	FAUX
702310253	com	3	0	0,7	en cours	mut/sauv.	72	<5	<5	<5	FAUX
702310382	ivc	2	17	0,1	en cours	sauvage	24	9	<5	<5	FAUX
702330181	ivc	2	4	7,3	102 ; muté	sauv. + mutant	<5	<5	<5	<5	FAUX
702350346	ivc	2	3	0,7	57,0	ne	<5	<5	<5	<5	FAUX
702350380	sen	2	3	0,1	en cours	sauvage	16	98	<5	<5+Q	FAUX
702360001	ivc	2	11	0,8	muté	muté	<5	<5	96	9	FAUX
702360384	ivc	3	18	12	muté	sauv. + mutant	53	244	<5	<5	FAUX
702370098	sen	2	1	0,8	4,00 ; sauvage	sauvage	<5	<5	<5	<5	FAUX
702370099	sen	2	2	0,0032	sauvage	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
702370113	upv	2	8	0,16	en cours	muté	118	49	<5	<5	FAUX
702370170	cae	3	6	5,9	muté	muté	<5	<5	<5	<5	FAUX
702370171	sen	2	13	1,9	sauvage	sauvage	<5	<5	<5	<5	FAUX
702380138	ivc	2	6	0,4	muté	sauvage	122	82	<5	<5	FAUX
702380148	com	3	4	2,5	sauvage	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
702380149	com	3	14	0,4	en cours	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
702380151	mai	2	6	12	15,3 ; sauvage	sauvage	<5	<5	<5	<5	FAUX
702380280	gha	2	8	0,007	sauv. + mutant	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
702390145	cae	3	17	0,008	sauv. + mutant	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
702400038	com	3	34	0,6	muté	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
702400121	upv	3	34	7,4	28,3 ; sauvage	sauvage	<5	<5	<5	<5	FAUX
702230198	cae	3	31	0,46	en cours	mut/sauv.	36	25	<5	<5	DOUTE
702280350	com	3	45	0,08	en cours	en cours	47	174	<5	<5	DOUTE
702370357	ivc	2	31	1,3	muté	muté	115	253	<5	<5	DOUTE
702370418	mai	2	39	0,28	en cours	en cours	245	170	187	20	DOUTE
702410195	mai	2	30	0,5	muté	en cours	168	39	63	<5	DOUTE
10338	ivc	2	15	<0,01	en cours	muté	180	70	50,3	13	VRAI
10384	cae	3	22	0,08	226	4696 ; muté	95	70	119	52	VRAI
702130139	cae	3	16	0,0002	muté	en cours	215	71	195	20	VRAI
702130217	cae	3	11	1,1	muté	muté	246	38	645	15	VRAI
702360256	upv	2	12	0,6	muté	en cours	269	258	35	27	VRAI
702370358	ivc	2	7	0,3	muté	en cours	184	115	186	12	VRAI
702380326	ivc	2	27	0,02	muté	en cours	268	219	736	25	VRAI
702390119	ivc	2	13	0,11	en cours	en cours	280	218	277	286	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 déclarant une prise prophylactique correcte de chloroquine (*P. falciparum*, 2002).**

N° du prélèvement	Pays de contage	Délai en jours entre retour et prélèvement	Zone	Parasitémie	CI <sub>50</sub> C et/ou Pfprt muté	Dosage plasmatique <sup>a</sup>				Echec
						C	Cm	P	Cy	
702330306	com	1	3	0,2	en cours	nd				-
10355	com	13	3	<0,01	273	<5	<5	<5	<5	FAUX
10363	sen	13	2	0,2	91,0	<5	<5	<5	<5	FAUX
702050407	cae	6	3	4,85	272 ; muté	<5	<5	<5	<5	FAUX
702310143	cae	10	3	0,3	112 ; muté	<5	<5	<5	<5	FAUX
702310209	ivc	8	2	3,0	87,3 ; muté	<5	<5	<5	<5	FAUX
702350305	maa	15	3	0,06	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
702360115	mai	7	2	0,1	en cours	252	231	16	18	FAUX
702370488	cae	3	3	0,52	en cours	163	289	21	21	FAUX
702400475	sen	2	2	0,04	en cours	<5	<5	<5	<5	FAUX
10352	com	68	3	<0,01	en cours	144	349	<5	<5	DOUTE
702400292	sen	146	2	0,053	en cours	<5	<5	<5	<5	DOUTE
10330	com	1	3	<0,01	en cours	140	315	<5	<5	VRAI
10332	com	1	3	<0,01	en cours	48	159	<5	<5	VRAI
10356	sen	0	2	0,5	81,0	40	145	<5	<5	VRAI
702150482	cae	6	3	0,11	muté	484	481	<5	<5	VRAI
702190229	cae	8	3	6,5	97,9 ; muté	13	87	<5	<5	VRAI

<sup>a</sup> concentration (µg L<sup>-1</sup>) de chloroquine (C), proguanil (P), monodesethylchloroquine (Cm), cycloguanil (Cy), 0= absence d'antipaludique ; nd = non déterminé.

**ANNEXE 4**

**Analyse des prélèvements diagnostiques de sujets déclarant une prise prophylactique correcte de méfloquine (*P. falciparum*, 2002).**

N° du prélèvement	Pays de contage	Zone	Délai en jours entre retour et prélèvement	Parasitémie	CI <sub>50</sub> MQ	Dosage plasmatique <sup>a</sup>		Echec
						Mq	cMq	
702490309	sil	2	16	13,1	21,00	<5	<5	FAUX
702240321	ivc	2	43	0,0015	-	250	137	VRAI
702360383	cae	3	13	0,09	-	180	310	VRAI
702420049	tog	2	29	10	20,10	205	68	VRAI

<sup>a</sup> Mq, cMq = concentration (µg L<sup>-1</sup>) de méfloquine et carboxyméfloquine, 0= absence d'antipaludique ; nd = non déterminé.

**ANNEXE 5**

**Observation d'échecs thérapeutiques**

**Echec thérapeutique de la méfloquine**

isolat K460259 : Homme de 63 ans, résident au Mali, arrivé en France le 01/11/02 pour prise en charge d'un myélome. La parasitémie est positive à 9% de *P. falciparum* et un traitement par Lariam® est donné: 3cp – 1cp – 1cp à huit heures d'intervalle le 5/11. Le 08/11/02 le patient présente des troubles neurologiques nécessitant une hospitalisation en réanimation avec une parasitémie à 1.3%. Le traitement est relayé par la quinine et la parasitémie est négative le 22/11. Test de chimiosensibilité non réalisé (parasites altérés), méfloquinémie J3 en cours.  
Conclusion : *échec thérapeutique précoce de la méfloquine.*

**Echecs thérapeutiques de la quinine**

isolat N400431 : Patient de 27 ans, d'origine tchadienne résident en France de retour du Tchad le 27/09/02. Pas de chimioprophylaxie. Il se présente à l'hôpital le 04/10/02 avec de la fièvre et une parasitémie à 8% de *P. falciparum* (500 800/µL). Le patient est hospitalisé et traité par de la quinine. Le 07/10 une parasitémie persiste à 153/µL et le 08/10, il est transféré en réanimation pour trouble neurologique (pas de suite). Profil de l'isolat : CI<sub>50</sub> C = 210 nM ; CI<sub>50</sub> A = 1.49 nM.  
Conclusion : *classé en échec thérapeutique précoce mais peu de données en faveur d'un échec thérapeutique.*

isolat E040679 : Patient de 52 ans, pilote d'avion, d'origine française, revenant d'un séjour sans chimioprophylaxie au Sénégal le 12/12/01. Il présente une fièvre le 22/12/01 au Mexique et reçoit 9mg/kg de chloroquine en 3 jours. A son retour en France le 31/12 il se présente à l'hôpital avec de la fièvre et une parasitémie à *P. falciparum* à 171/µL. Une cure de quinine est prescrite, interrompue après 3 jours pour acouphènes. Le 25/01/02, il revient à l'hôpital avec une fièvre et la parasitémie à *P. falciparum* est de 3,5% (138 250/µL, profil de l'isolat : CI<sub>50</sub> C : 118nM, CI<sub>50</sub> Q : 322nM, CI<sub>50</sub> A : 2,3nM). Il reçoit 17mg/kg/j x 3j de quinine et présente le 28/01 une parasitémie résiduelle de 4/µL et une quininiémie à 12,7 mg/L 8h après la dernière prise ; il est décidé de compléter le traitement par 14mg/kg/j x 4j de quinine. Le 29/03, il consulte à nouveau pour fièvre et la parasitémie est à 2,7% de *P. falciparum* (122 040/µL, profil de l'isolat : CI<sub>50</sub> C : 124nM, CI<sub>50</sub> Q : 668nM, CI<sub>50</sub> A : 6,8nM) ; il est alors traité par la Malarone® avec une réponse parasitologique et clinique adéquate à J4, J28 et J56.  
Conclusion : *Echecs thérapeutiques tardifs liés à des traitements à posologie insuffisante de quinine et à la persistance d'un isolat faiblement sensible à la quinine.*

### Echecs thérapeutiques de l'halofantrine

isolat B340150 : Enfant de 1 ans d'origine africaine né en France. Revient d'un voyage en Côte d'Ivoire le 05/08/02. Chimio prophylaxie par de la Paludrine®, prise de façon irrégulière. Le 19/08/02 il est présenté à l'hôpital pour fièvre, la parasitémie est positive à 0.2% de *P. falciparum*. Traitement par une cure d'Halfan® et rechute probablement liée à une *absorption insuffisante du médicament*.

isolats B350380, B370169, B380167 : enfants traités par une seule cure d'Halfan® qui ont présenté une rechute tardive, probablement liée à une *absorption insuffisante du médicament*.

## 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 2002 (pays du groupe 3 en grisé) (données CNRCP).

	Cycloguanilo- R % (n)	Chloroquino- R % (n)	Bi-résistance <sup>a</sup> % théorique <sup>b</sup>
Djibouti 1999	4 (25)	93 (27)	3,7
Burkina Faso : BoboDioulasso 1996-99	15 (46)	32 (75)	4,8
Côte d'Ivoire : Bingerville 1996, 98, 99	33 (61)	27 (64)	8,9
Niger : Niamey 2001	25 (20)	42 (26)	10,5
Sénégal : Dielmo, Ndiop Pikine 1996	26 (179)	51 (163)	13
Sénégal : Dielmo, Ndiop 1997	48 (75)*	59 (76)**	28
Sénégal : Dielmo, Ndiop 1998	32 (69)*	27 (71)**	8,6
Sénégal : Dielmo, Ndiop 1999	56 (54)*	55 (53)**	31
Gabon : Libreville 1997	38 (78)	90 (63)	34
Gabon : Libreville 1999	48 (27)	95 (102)	46
Gabon : Port Gentil 1999	64 (10)	81 (15)	52
Thaïlande : Shoklo 1992-98	100 (28)	96 (28)	96
Congo : Pointe Noire 1999	87 (23)	ne	
Liberia : Harper 2000	84 (25)	ne	
Congo : Brazzaville 2001-02	94 (132)	ne	
RD Congo : Kinshasa 2001	95 (96)	ne	
Comores : Mayotte 2000	47 (32)	ne	

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