

WHO/Mal/402
9 juillet 1963

ORIGINAL : ANGLAIS

SOUCHE VIETNAMIENNE DE PLASMODIUM FALCIPARUM RESISTANTE A LA CHLOROQUINE

par le

Dr Robin D. Powell, le Dr George J. Brewer et le Dr Alf S. Alving
Army Medical Research Project of the Department of Medicine,
University of Chicago, Chicago, III.,
Etats-Unis d'Amérique

Des études préliminaires ont été effectuées sur une souche de Plasmodium falciparum provenant du Viet-Nam et connue sous le nom de souche vietnamienne (Sn.). Le Capitaine Sn. (34 ans, blanc) du Marine Corps des Etats-Unis a séjourné près d'un an aux environs de Nha Trang dans le Sud Viet-Nam. Il a reçu hebdomadairement 300 mg de chloroquine-base et ne s'est jamais rendu en Thaïlande. Il se trouvait au Viet-Nam lorsqu'il a souffert d'un premier accès clinique aigu de paludisme vers la fin d'août 1962. A l'examen hématologique d'un étalement épais le 27 août 1962, on a découvert des formes érythrocytaires asexuées de P. falciparum. Un "traitement courant" (1500 mg de chloroquine-base en trois jours) ou des doses supérieures de chloroquine absorbée par la voie buccale ont été administrés à trois reprises : pendant la dernière semaine d'août 1962, pendant la troisième semaine de septembre 1962 et pendant la première semaine d'octobre 1962. La seconde série a compris 2700 mg de chloroquine-base en sept jours (600 mg initialement, 300 mg six heures plus tard, et 300 mg quotidiennement pendant les six jours suivants). Chaque fois, on a observé une réduction temporaire des symptômes et de la parasitémie manifeste. Cependant, une recrudescence (reprise de la fièvre et présence de parasites dans les frottis sanguins) s'est produite deux

à trois semaines après chacune des deux premières séries de traitement. Au cours de la troisième semaine d'octobre 1962 (deux semaines après la troisième série), le malade a été transféré au Naval Hospital des Etats-Unis, à Great Lakes, Illinois (Etats-Unis d'Amérique).¹ Les 5 et 6 novembre 1962 (quatre semaines après la troisième série) la fièvre a réapparu et des formes érythrocytaires asexuées de P. falciparum ont été retrouvées dans les frottis sanguins. Les études sur lesquelles porte le présent rapport ont été entreprises le 7 novembre 1962 par inoculation de sang infecté provenant du malade à des volontaires non immuns détenus au Stateville Penitentiary, à Joliet, Illinois (Etats-Unis d'Amérique).

Au cours des deuxième et troisième semaines de novembre 1962, le malade (Capitaine Sn.) a reçu quotidiennement 1935 mg de sulfate de quinine (6 doses de 5 grains chacune) pendant dix jours et 50 mg de pyriméthamine pendant trois jours. Il en est résulté une guérison radicale qu'établissent les deux faits suivants : 1) aucune recrudescence n'a été enregistrée chez l'intéressé; 2) 450 ml du sang du malade ayant été injectés le 5 décembre 1962 à un volontaire non immun, celui-ci n'a présenté aucun symptôme de paludisme pendant une période de surveillance de trois mois.

Le tableau 1 récapitule les résultats des expériences de chimiothérapie faites sur des volontaires. Ceux-ci étaient des Américains adultes en bonne santé, de 22 à 42 ans (âge moyen : 31 ans), pesant de 60 à 91 kg (poids moyen : 73 kg). Deux étaient des Noirs, 18 des Blancs. On s'est assuré qu'ils n'étaient pas immuns en excluant : 1) tous les volontaires qui, avant leur entrée au pénitencier, avaient souffert de paludisme ou de troubles évoquant même lointainement le paludisme; 2) tous les volontaires qui étaient nés, avaient vécu ou avaient séjourné brièvement dans une zone impaludée; 3) tous les volontaires qui avaient contracté une infection

¹ Nous tenons à exprimer ici notre reconnaissance aux membres des Forces armées américaines, et en particulier à ceux de la Marine des Etats-Unis qui se trouvent au Naval Hospital de Great Lakes, Illinois, dont la coopération nous a permis de procéder aux études décrites dans le présent document.

à falciparum dans le cadre d'expériences menées au pénitencier. Les méthodes d'étude ont été décrites dans le détail ailleurs (Alving, Craige, Pullman, Whorton, Jones & Eichelberger, 1948; Powell, Brewer, Alving & Miller, 1963). Des étalements sanguins épais ont été préparés et colorés par la méthode qu'ont indiqué Earle & Perez (1932). Pour dénombrer les formes érythrocytaires asexuées de P. falciparum contenues dans $0,1 \text{ mm}^3$ de sang, on a examiné 90 champs en immersion huileuse (de chacun $0,1 \text{ mm}^2$) et déterminé les chiffres pour $1,0 \text{ mm}^3$ de sang entier. Il s'agit de trophozoïtes, non de gamétocytes; des schizontes mûrs n'ont été observés que très rarement. Les médicaments ont été administrés par la voie buccale (sauf dans le cas d'un volontaire qui a reçu des injections intramusculaires de chloroquine) et sous surveillance étroite. Les doses utilisées sont exprimées en mg de principe actif. La chloroquine a été recherchée par la méthode d'Haskins (1958) dans de nombreux échantillons d'urine des sujets ayant reçu ce médicament. Cependant, il a parfois été nécessaire de donner une petite dose de quinine (270 ou 540 mg de quinine-base) pour éviter un taux dangereusement élevé de parasitémie (par exemple, plusieurs jours après l'administration de la chloroquine). Or la quinine donne des réactions positives au test d'Haskins; celui-ci n'a donc pas été pratiqué quand le volontaire avait reçu de la quinine en sus de la chloroquine.

Six volontaires souffrant d'accès cliniques aigus de paludisme (avec parasitémie et fièvre atteignant au moins $38,5^{\circ}\text{C}$) ont été traités au moyen de diphosphate de chloroquine absorbé par la voie buccale suivant le schéma recommandé en pareille occurrence pour les adultes non-immuns (600 mg de chloroquine-base le premier jour, 300 mg six jours plus tard, et 300 mg chacun des deux jours suivants). La dose totale de chloroquine-base administrée a été de 1500 mg. Il y a eu remarquablement peu d'effets thérapeutiques. La fièvre et la parasitémie ont baissé provisoirement chez cinq sujets, mais une faible température a persisté et les étalements sanguins épais sont restés positifs. Chez le sixième, la parasitémie a augmenté. Au début du traitement, on avait dénombré par mm^3 de sang chez les six volontaires respectivement 280, 720, 1310, 1560, 2220 et 16 960 formes érythrocytaires

asexuées (trophozoïtes) de P. falciparum. Quarante-huit heures plus tard, les chiffres correspondants étaient les suivants : 30, 440, 6400, 820, 1860 et 13 420. Les six sujets ont eu des accès cliniques aigus de paludisme de un à quatre jours après la fin du traitement. Au test d'Haskins pour la recherche de la chloroquine, les échantillons d'urine ont donné des réactions négatives avant l'administration du médicament, fortement positives pendant et après le traitement (alors que des accès cliniques aigus de paludisme se produisaient).

Un volontaire a reçu, au cours d'un accès clinique aigu, un traitement de trois jours au diphosphate de chloroquine administré par la voie buccale à des doses doubles de celles qui sont mentionnées au paragraphe précédent (dose totale : 3000 mg de chloroquine-base). La fièvre (39°C à l'origine) a baissé mais une faible température (38 à $38,5^{\circ}\text{C}$) a persisté. Au début du traitement il y avait 1000 parasites par mm^3 de sang. La parasitémie n'était plus décelable dans les frottis sanguins le troisième et le cinquième jours; elle a repris le sixième. Au cours des quatre jours suivants, le nombre des parasites s'est élevé à 2270 par mm^3 et la fièvre a remonté nettement (39°C). Au test d'Haskins, les réactions étaient négatives avant le traitement; elles ont été fortement positives tant pendant l'administration de chloroquine que six à dix jours après le début de l'action thérapeutique (au moment de la recrudescence).

Un volontaire, faisant un accès clinique aigu, a reçu trois fois par jour pendant trois jours 240 mg de chloroquine-base (300 mg de bichlorhydrate de chloroquine) injectés par la voie intramusculaire. La dose totale a été de 2160 mg de chloroquine-base. La fièvre (40°C à l'origine) a baissé et la température était revenue à la normale cinq jours après le début du traitement. La parasitémie (à l'origine 230 parasites par mm^3 de sang) a diminué. Les étalements sanguins épais étaient négatifs au bout de trois jours, mais au bout de dix ils sont redevenus positifs et dans les deux jours suivants la parasitémie a rapidement augmenté (jusqu'à 1010 par mm^3) et la fièvre a monté (jusqu'à $40,5^{\circ}\text{C}$). Au test d'Haskins, les réactions, négatives à l'origine, ont été fortement positives pendant le traitement et dix jours plus tard.

Ces faits indiquent que les formes érythrocytaires asexuées de la souche vietnamienne (Sn.) de P. falciparum sont hautement résistantes à la chloroquine.

Les formes en question ne cèdent pas aux doses habituelles d'hydroxychloroquine, d'amodiaquine, de mépacrine et de proguanil (tableau 1). Ces médicaments ont été administrés par la voie buccale selon la posologie employée lors d'une étude antérieure sur une souche thaïlandaise de P. falciparum résistante à la chloroquine (Powell, Brewer, Alving & Millar, 1963). Des doses de ces schizontocides qui donnent une guérison radicale pour des souches sensibles de P. falciparum n'ont eu aucun effet sur la souche vietnamienne (Sn.). Il y a eu, au mieux, diminution temporaire de la fièvre et de la parasitémie. En outre, les formes érythrocytaires asexuées de la souche vietnamienne (Sn.) sont résistantes au 377-C-54 (tableau 1), un hydroxynaphtalène que l'on sait exercer une action schizontocide sur certaines souches de P. falciparum et de P. vivax chez l'homme (Bruce-Chwatt & Charles, 1951; Singh, Ray, Sen Gupta & Misra, 1959) et sur une souche de P. berghei résistante à la chloroquine chez la souris (Hawking & Gammage, 1962).

L'administration quotidienne de 50 mg de pyriméthamine pendant trois jours a radicalement guéri huit volontaires traités au cours d'accès aigus. Chez quatre sujets, l'absorption quotidienne pendant quatre jours par la voie buccale de 1620 mg de quinine-base (trois doses de dix grains de sulfate de quinine chacune) n'a pas amené de guérison radicale (tableau 1). Chez deux d'entre eux les résultats ont été les mêmes pour sept jours de ce traitement. En revanche, cinq volontaires ont été radicalement guéris en dix jours par la quinine (1620 mg de base chaque jour). La tolérance relative à la quinine des formes érythrocytaires asexuées de la souche vietnamienne (Sn.) de P. falciparum fait actuellement l'objet d'études plus poussées.

La souche vietnamienne (Sn.) ne présente pas les mêmes caractéristiques que d'autres souches de P. falciparum résistantes à la chloroquine précédemment isolées. L'une de ces souches, provenant de Colombie (Amérique du Sud), qui a été étudiée de manière approfondie s'est révélée sensible au proguanil, à la pyriméthamine et à la quinine (Moore & Lanier, 1961; Young & Moore, 1961; Young, 1961; Young, 1962; Powell, Brewer & Alving, 1963). Les formes érythrocytaires asexuées de la souche vietnamienne (Sn.) ne réagissent pas au proguanil; cette souche diffère

donc à cet égard de la souche colombienne. Dans le cas d'une souche thaïlandaise (JHK) résistante à la chloroquine, les formes érythrocytaires asexuées résistent à tous les médicaments antipaludiques généralement utilisés, sauf la quinine (Young, Contacos, Stitcher & Millar, 1963; Powell, Brewer, Alving & Millar). Il y a donc là une nette différence avec la souche vietnamienne (Sn.) dont les formes érythrocytaires asexuées sont sensibles à la pyriméthamine.

On vient d'achever une série d'essais préliminaires touchant l'action prophylactique contre la souche vietnamienne (Sn.) du CI-501 (pamoate de diamino-4,6 (p-chlorophényl)-1 dihydro-1,2 diméthyl-2,2 s-triazine). Ce sel de l'acide pamoïque et d'un métabolite hautement actif (dihydrotriazine) de proguanil est un produit expérimental nouveau d'un grand intérêt (Thompson, Olszewski, Elslager & Worth; Schmidt, Rossan & Fisher). Des volontaires qui avaient reçu par voie intramusculaire une dose unique (5 mg par kg) de CI-501 ont été protégés pendant six mois ou plus contre des expositions répétées au paludisme à vivax de Chesson (Coatney, Contacos, Elder & Kilpatrick). Dans nos essais, une seule injection intramusculaire (350 mg) a été administrée le 14 février 1963 à trois volontaires non immuns. Le premier (poids : 80 kg) a reçu une préparation contenant des particules de 25 microns en excipient aqueux (X-9149), le deuxième (poids : 91 kg) une préparation contenant des particules de 25 microns en excipient huileux (X-9150), et le troisième (poids : 72 kg) une préparation contenant des particules de 1 à 5 microns en excipient huileux (X-8607). Un quatrième sujet a servi de témoin et a reçu uniquement une dose d'excipient aqueux ne contenant pas de CI-501 (X-9164). Vingt jours plus tard, les quatre volontaires ont été piqués (au même moment) par 10 Anopheles stephensi fortement infectés par des P. falciparum de la souche vietnamienne (Sn.). Au bout de neuf jours, une infection patente s'est manifestée chez tous. Des accès cliniques aigus ont suivi. Il n'a pas été observé de différences significatives dans l'évolution de la parasitémie entre le groupe traité et le témoin. Pendant la période de patence, du CI-501 a été retrouvé dans les urines des trois sujets qui avaient reçu ce produit (les taux d'excrétion urinaire pour 24 heures étaient respectivement de 8,6, 2,3 et 2,9 mg¹).

¹ Ces dosages ont été effectués gracieusement par Parke, Davis & Company, Research Laboratories, Ann Arbor, Michigan.

Conclusions

Les formes érythrocytaires asexuées d'une souche de Plasmodium falciparum provenant du Viet-Nam se sont montrées résistantes aux doses thérapeutiques courantes de chloroquine, d'hydroxychloroquine, d'amodiaquine, de mépacrine et de proguanil. L'administration de ces médicaments au cours d'accès aigus de paludisme n'a provoqué qu'une diminution temporaire de la fièvre et de la parasitémie. Chez huit volontaires, la guérison radicale d'infections par cette souche de P. falciparum a été obtenue par l'administration quotidienne de 50 mg de pyriméthamine pendant trois jours. Le même résultat n'a été enregistré que pour deux sujets sur quatre qui avaient reçu quotidiennement 1620 mg de quinine-base (30 grains de sulfate de quinine) pendant sept jours. Le CI-501 n'a pas exercé d'effets prophylactiques démontrables contre la souche vietnamienne (Sn.) de P. falciparum au cours d'essais consistant à administrer ce médicament à des doses comparables à celles qui ont été signalées comme efficaces contre des expositions répétées au paludisme à vivax de Chesson.

TABLEAU 1. SOUCHE VIETNAMIENNE (SN.) DE PLASMODIUM FALCIPARUM
EFFETS DES MEDICAMENTS CONTRE LES FORMES ERYTHROCYTAIRES ASEXEUES
(TRAITEMENT AU COURS D'ACCES CLINIQUES AIGUS)

Médicament	Dose (mg de principe actif absorbés par la voie buccale)		Durée du traitement (jours)	Nombre de personnes traitées	Aucun effet	Effet thérapeutique ^a			
	Quotidienne	Totale				Partiel	Effet temporaire		Guérison radicale
							Partiel	Complet	
Chloroquine		1 500	3	6	1	5			
		3 000	3	1			1		
	720 ^b	2 160	3	1			1		
Hydroxychloroquine		1 500	3	1		1			
Amodiaquine		1 400	3	2		2			
Pyriméthamine	50	150	3	8				8	
Mépacrine		2 198	7	2				2	
Proguanil	261	2 610	10	3		1		2	
377-C-54		1 500	3	1					
		2 500	3	1		1		1	
Quinine ^c	1 620	6 480	4	4				4	
	1 620	11 340	7	4				2	
	1 620	16 200	10	5				5	

^a Effet partiel temporaire = diminution temporaire, attribuable au médicament, de la fièvre ou de la parasitémie, sans qu'il y ait retour à la température normale et sans que les frottis sanguins deviennent négatifs. Effet complet temporaire = diminution temporaire, attribuable au médicament, de la fièvre et de la parasitémie, avec, provisoirement, retour à la température normale ou résultats négatifs à l'examen des frottis sanguins. Guérison radicale = Eradication totale des parasites de l'organisme, manifestée par l'absence de toute recrudescence pendant une période de surveillance d'au moins 60 jours.

^b Administrés par la voie intramusculaire.

^c 1620 mg de quinine-base = 1935 mg de sulfate de quinine (30 grains).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alving, A. S., Craige, B., jr, Pullman, T. N., Whorton, C. M., Jones, R., jr & Eichelberger, L. (1948) J. clin. Invest. 27, 2
- Bruce-Chwatt, L. J. & Charles, L. J. (1957) Brit. med. J. 2, 23
- Coatney, G. R., Contacos, P. G., Elder, H. A. & Kilpatrick, J. W. (1962) Communication au congrès annuel de l'American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Octobre, Atlanta, Ga.
- Haskins, W. T. (1958) Amer. J. trop. Med. Hyg. 7, 199
- Hawking, F. & Gammage, K. (1962) Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 56, 263
- Moore, D. V. & Lanier, J. E. (1961) Amer. J. trop. Med. Hyg. 10, 5
- Powell, R. D., Brewer, G. J. & Alving, A. S. (1963) Amer. J. trop. Med. Hyg. (sous presse)
- Powell, R. D., Brewer, G. J., Alving, A. S. & Millar, J. W. (1963) WHO/Mal/399
- Ray, A. P., Singh, N., Sen Gupta, G. P. & Misra, B. B. (1959) J. Indian med. Ass. 32, 398
- Schmidt, L. H., Rossan, R. N. & Fisher, K. F. (1962) Communication au congrès annuel de l'American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Octobre, Atlanta, Ga.
- Thompson, P. E., Olszewski, B., Elslager, E. F. & Worth, D. F. (1962) Communication au congrès annuel de l'American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Octobre, Atlanta, Ga.
- Young, M. D. (1961) Amer. J. trop. Med. Hyg. 10, 689
- Young, M. D. (1962) Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 56, 252
- Young, M. D. & Moore, D. V. (1961) Amer. J. trop. Med. Hyg. 10, 317
- Young, M. D., Contacos, P. G., Stitcher, J. E. & Millar, J. W. (1963) Amer. J. trop. Med. Hyg. 12, 305

Le but des documents de la Série WHO/Mal est le suivant :

- a) mettre le personnel de l'OMS, les instituts nationaux, les chercheurs et les travailleurs de la santé publique au courant de l'évolution des recherches sur le paludisme et des progrès de l'éradication du paludisme au moyen d'exposés succincts relatifs à quelques problèmes en cause;
- b) distribuer, aux catégories de lecteurs indiquées ci-dessus, les rapports d'opérations et autres communications qui présentent un intérêt particulier, mais qui ne sont pas normalement imprimés dans les publications de l'OMS;
- c) communiquer aux intéressés différents articles qui sont destinés à la publication mais qui, en raison de leur actualité, méritent d'être rapidement connus.

La parution d'un article dans cette série ne constitue donc pas une publication officielle et un tel article peut donc, avec l'accord de l'auteur et de l'OMS, être publié dans un périodique de l'OMS ou ailleurs.

Les articles signés n'engagent que leurs auteurs. La mention des manufactures et des produits commerciaux n'implique pas que ces maisons ou leurs produits soient recommandés ou approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres.