

Echecs thérapeutiques multiples et successifs chez un patient infecté par *Plasmodium falciparum* au Cambodge et traité par dihydroartémisinine-pipéraquline

Multiple and successive treatment failures in a patient infected by *Plasmodium falciparum* in Cambodia and treated by dihydroartemisinin-piperaquine

B. Witkowski · N. Khim · S. Kim · A. Domergue · V. Duru · D. Menard

Reçu le 14 janvier 2016 ; accepté le 9 mars 2016
© Société de pathologie exotique et Lavoisier SAS 2016

Résumé Les cas d'échecs thérapeutiques après traitement par des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA ou ACT) restent peu courants dans les zones d'endémie palustre. Au Cambodge, en revanche, la défaillance de ces traitements est maintenant couramment observée. Ces cas sont habituellement uniques et une deuxième administration du même traitement est suffisante pour avoir une guérison du patient. Nous présentons ici un cas clinique original d'un patient infecté par *Plasmodium falciparum* ayant présenté des épisodes successifs de recrudescences parasitaires après traitement par dihydroartémisinine-pipéraquline (Eurartesim®). Ce cas s'inscrit dans la problématique actuelle de résistance des parasites aux traitements de dernière génération en Asie du Sud-Est et souligne la difficulté à lutter efficacement contre le paludisme dans cette région si de nouvelles lignes thérapeutiques ne sont pas déployées.

Mots clés *Plasmodium falciparum* · Paludisme · Dihydroartémisinine-pipéraquline · Chimiorésistance · Kachaun · Ratanakiri · Cambodge · Asie du Sud-Est

Abstract Cases of treatment failures following administration of artemisinin-based combination therapies (ACT) remain rare in malaria endemic areas. In Cambodia, however, failures of these treatments are now commonly observed. Usually, these post-treatment recurrences occur only once and a second course of the same treatment is sufficient to cure patients. We describe here an atypical case of a *Plasmodium falciparum*-infected patient manifesting several malaria recrudescence episodes following dihydroartemisinin-piperaquine

(Eurartesim®) treatment. This case report illustrates the current issue of resistance to the latest generation of antimalarial drugs in Southeast Asia and highlights the difficulty in efficaciously fighting malaria in this region if new therapy remains unimplemented.

Keywords *Plasmodium falciparum* · Malaria · Chemoresistance · ACT · Kachaun · Ratanakiri · Cambodia · South East Asia

Introduction

La mise en place des combinaisons à base d'artémisinine (ACT), depuis une dizaine d'années, a amélioré la prise en charge du paludisme à *Plasmodium falciparum*. Cette initiative est, en partie, responsable du recul de la mortalité qui est passée en 15 ans de 1,1 million de cas annuels à environ 400 000 actuellement [15]. Ce bénéfice s'explique par la forte et rapide action antiparasitaire des ACT, leur posologie permettant une observance adéquate, une bonne accessibilité, et par le fait que les ACT ne sont pas encore compromis par la résistance des parasites et ce dans la majorité des zones impaludées. Bien que l'artémisinine et les ACT ont été initialement présentés comme étant peu susceptibles de sélectionner des parasites résistants [13,14], une baisse de l'efficacité thérapeutique de l'artémisinine est décrite au Cambodge depuis 2007 [5]. Une extension de la résistance à l'artémisinine a été détectée dans la plupart des pays de l'Asie du Sud-Est et dans le sud de la Chine [4]. En 2005, le premier ACT mis en place au Cambodge était l'association artésunate-méfloquine. Devant la baisse progressive d'efficacité de ce traitement [1,9], il fut remplacé en 2011 par l'association dihydroartémisinine-pipéraquline (DHA-PPQ). Ce traitement, distribué sous le nom d'Eurartesim®

B. Witkowski (✉) · N. Khim · S. Kim · A. Domergue · V. Duru · D. Menard
Institut Pasteur du Cambodge, 5 boulevard Monivong,
Phnom Penh, BP983, Cambodge
e-mail : bwitkowski@pasteur-kh.org

(Sigma-Tau, Pomezia, Italie), constitue jusqu'à présent le traitement de référence des accès palustres non compliqués à *Plasmodium falciparum* au Cambodge. Dès 2012 les premiers échecs thérapeutiques à ce traitement furent recensés [7] pour atteindre actuellement dans certaines zones du Cambodge une prévalence de près de 60 % [10,11]. Nous décrivons ici un cas clinique atypique d'un patient ayant présenté plusieurs échecs thérapeutiques successifs après avoir reçu de la DHA-PPQ. Ce cas s'inscrit dans la problématique de la résistance aux ACT au Cambodge, tout particulièrement à l'heure où sont mises en place des stratégies en vue d'éliminer le paludisme de ce pays.

Cas clinique

Un homme de 45 ans, travaillant depuis 5 ans dans une plantation d'hévéas située près du village de Kachaun dans la province de Ratanakiri à l'est du Cambodge, présenta le 3 juin 2014 un état fébrile avec des céphalées. Ce patient n'avait contracté le paludisme qu'une fois dans sa vie (en 1998) et n'avait pas voyagé hors de la province de Ratanakiri depuis 5 ans. Les symptômes persistèrent pendant 5 jours durant lesquels il ne prit aucune médication. Le 8 juin 2014, il se rendit au centre de santé de Veurn Say, situé à proximité de Kachaun. À l'admission il présentait une fièvre > 38°C. Le test de diagnostic rapide du paludisme détectant les antigènes HRP2/pLDH (Histidine Rich Protein II/ Plasmodium Lactate Dehydrogenase, premier Medcorp, Watchung, États-Unis) montra une infection à *Plasmodium falciparum*. Un échantillon de sang veineux (ACD vacutainer® tube, Becton-Dickinson, Franklin Lakes, États-Unis) fut prélevé pour analyses ultérieures. Compte tenu du tableau clinique du patient qui ne présentait pas de signes d'accès palustre compliqué et de son poids (58 kg), il fut décidé, par les praticiens du centre de santé, de lui administrer de l'Eurartesim® per os (40 mg de DHA et 320 mg de PPQ par dose) à raison d'une prise simultanée de 3 comprimés par jour pendant 3 jours. Le patient ne présenta pas de vomissement et après avoir reçu son traitement, il put quitter le centre de santé. Le 26 juin 2014 (J 18), il présenta un nouvel accès fébrile et se rendit dans le même centre de santé. Le diagnostic rapide montra alors qu'il présentait de nouveau un accès palustre à *P. falciparum*. Un échantillon sanguin fut prélevé et il reçut un second traitement par DHA-PPQ suivant la posologie précisée ci-dessus. Le 26 juillet 2014 (J 48), ce même patient de nouveau fébrile (température > 38°C), revint une troisième fois au centre de santé où fut diagnostiquée une infection à *P. falciparum*, un prélèvement sanguin effectué et un troisième traitement par de la DHA-PPQ donné. Le 2 septembre 2014 (J 86), ce patient revint une fois de plus au centre de santé parce

qu'il présentait de nouveau de la fièvre (température > 38°C). Le diagnostic d'infection à *P. falciparum* fut encore établi par un test de diagnostic rapide, mais cette fois aucun échantillon sanguin ne fut collecté. Il reçut une quatrième fois de la DHA-PPQ. Cet accès fut le dernier, le patient n'ayant plus présenté de symptômes d'infection palustre au cours des 63 jours suivants.

Pour les trois premiers épisodes palustres de ce patient, les échantillons de sang veineux collectés furent expédiés à l'Institut Pasteur du Cambodge dans le cadre du programme de surveillance des résistances aux antipaludiques. À la réception, les échantillons furent immédiatement inclus dans le schéma analytique de génotypage et de phénotypage des parasites. L'analyse génotypique, réalisée après extraction de l'ADN parasitaire, a tout d'abord montré la présence exclusive de *P. falciparum* dans les trois échantillons. Une détermination de plusieurs « single nucleotide polymorphism » [7] fut réalisée démontrant que dans les trois échantillons (accès initial et recrudescences à J 19 et J 48), une seule et même souche de *P. falciparum* était présente. Puis le gène K13 fut séquencé [3] sur les trois échantillons et dans chaque cas la mutation C580Y fut retrouvée (Tableau 1). L'analyse phénotypique fut réalisée après mesure de la densité parasitaire de chaque échantillon donnant, dans l'ordre chronologique, une parasitémie de 110 000, 80 000 et 12 500 parasites par µl de sang. Tous les prélèvements présentaient des parasites au stade anneau avec présence de gamétocytes dans l'échantillon collecté lors du troisième épisode. Les trois échantillons présentant une densité parasitaire suffisante (> 5 000 parasites/µl) furent testés suivant la méthodologie du *Piperaquine Survival Assay* (PSA) [6] afin de mesurer la susceptibilité à la pipéraquline. Des valeurs de respectivement 17 %, 63 % et 36 % de survie furent mesurées (Tableau 1).

Discussion

Le Cambodge est actuellement la zone d'endémie palustre où la résistance aux ACT est la plus fréquente, conséquence depuis une décennie d'une généralisation de la résistance des parasites aux dérivés de l'artémisinine en association avec une résistance aux molécules partenaires des ACT et plus particulièrement à la pipéraquline [1,2,5,10].

Le cas clinique présenté ici décrit une succession de recrudescences parasitaires à la suite d'un traitement à la DHA-PPQ bien conduit (Tableau 1). L'inefficacité du traitement pourrait être due également à de nouvelles infections à *P. falciparum* ou encore à une reviviscence à *Plasmodium vivax*. Les investigations de biologie moléculaire ont montré que ce patient a été exclusivement porteur à chaque accès de *P. falciparum* et que la même souche a été retrouvée dans les

Tableau 1 Résultat des analyses génotypiques et phénotypiques / <i>Results of genotypic and phenotypic analysis..</i>				
Isolat	Recrudescence*	SNP	Allèle K13	PSA
Infection initiale	-	TCCTGGGACCT	C580Y	17 %
Première recrudescence	19	TCCTGGGACCT	C580Y	63 %
Seconde recrudescence	48	TCCTGGGACCT	C580Y	36 %
Troisième recrudescence	86	n/d	n/d	n/d

* exprimé en nombre de jours après diagnostic de l'infection initiale / expressed in days post initial infection diagnostic ; SNP = single nucleotide polymorphism ; PSA = piperaquine survival assay; n/d = non déterminé.

trois isolats. Les recrudescences observées sont bien la conséquence de l'incapacité du traitement à éliminer les parasites sanguins. Ce résultat est renforcé par l'analyse des marqueurs génotypiques et phénotypiques de résistance. La souche qui a infecté ce patient présente une mutation dans le gène K13 donnant une substitution d'acide aminé en position 580 (C580Y). Cette mutation est un marqueur indiscutable de résistance aux dérivés d'artémisinine majoritairement retrouvée au Cambodge et qui est associée aux échecs cliniques à la DHA-PPQ [3,11]. De plus, les valeurs de PSA obtenues sont à chaque fois supérieures à 10 % de survie qui est le seuil de résistance à la pipéraquline [6]. Ce patient a été infecté par une souche multirésistante à l'artémisinine et à la pipéraquline.

Cette étude présente toutefois plusieurs limitations. Compte tenu de la non-disponibilité de dosages sériques en DHA et en pipéraquline chez ce patient, nous ne pouvons formellement exclure que ces échecs soient la conséquence d'une malabsorption ou d'un sous-dosage dû à l'utilisation d'un médicament dégradé ou contrefait [16]. Toutefois, l'approvisionnement en médicaments de qualité dans le système de santé publique du Royaume du Cambodge, la posologie adaptée et la prise correcte du traitement ainsi que le portage de parasites multirésistants par ce patient laissent plutôt penser que la cause de ces échecs fut d'ordre parasitaire. Concernant la troisième recrudescence observée chez ce patient, aucun échantillon n'a pu être collecté et elle peut être la conséquence d'une nouvelle infection. Néanmoins, compte tenu des précédents événements cliniques chez ce patient et de la faible prévalence du paludisme au Cambodge, il y a de fortes chances pour que cela soit un troisième échec thérapeutique. Concernant la guérison après la troisième recrudescence, elle peut être due à une réduction suffisante de la biomasse parasitaire par les précédents traitements pour que la dernière administration de DHA-PPQ soit efficace. Néanmoins, même si après son quatrième accès palustre le patient n'a plus présenté de symptômes et donc n'a pas consulté de nouveau, rien n'indique qu'il n'est pas alors devenu porteur asymptomatique de parasites.

Conclusion

Ce cas s'inscrit dans une réalité de terrain rencontrée par les praticiens au Cambodge, mais est original par plusieurs aspects : tout d'abord la localisation de ce cas, la province de Ratanakiri étant jusqu'à récemment indemne de résistance à la DHA-PPQ. Le patient n'ayant pas voyagé, il a donc contracté l'infection sur place. Cela montre une dynamique dans la résistance avec une extension vers des localités précédemment épargnées. Puis par la durée de portage des parasites. Ce patient a hébergé la même souche multirésistante sur une durée avérée de 48 jours et très probablement pendant 86 jours. Ainsi, durant toute cette période, il était susceptible de constituer un réservoir pour la transmission, comme en atteste la présence de gamétoocytes lors de son troisième accès palustre. Cette observation ainsi que plusieurs publications portant sur de nombreux échecs thérapeutiques après un traitement à la DHA-PPQ, indiquent qu'il est maintenant illusoire de vouloir contrôler et plus encore éliminer le paludisme au Cambodge avec ce type d'ACT. Il est dorénavant urgent d'orienter la politique de lutte antipaludique vers des traitements disponibles et actifs contre ces souches multirésistantes. À l'heure actuelle, aucune molécule n'est disponible pour remplacer l'artémisinine et donc cette dernière doit continuer à être utilisée malgré la résistance des parasites. En ce qui concerne la pipéraquline, différentes études ont démontré que la résistance du parasite à cette molécule impliquait une augmentation de sa sensibilité à la méfloquine et réciproquement [6,8,12]. Partant de ce constat, l'association artésunate-méfloquine pourrait être utilisée pendant un temps relativement court du fait de la très probable apparition rapide de parasites résistants. Cette étude illustre la mise en application de stratégies de surveillance de la résistance du parasite aux ACT. Cette surveillance doit être effectuée globalement et tout particulièrement en Afrique afin de détecter le plus précocement possible l'introduction de parasites multirésistants provenant de l'Asie du Sud-Est, comme ce fut le cas pour la chloroquine ou la sulfadoxine-pyriméthamine.

Liens d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts

Références

- Alker AP, Lim P, Sem R, et al (2007) Pfmdr1 and in vivo resistance to artesunate-mefloquine in *falciparum* malaria on the Cambodian-Thai border. *Am J Trop Med Hyg* 76(4):641–7
- Amaratunga C, Lim P, Suon S, et al (2016) Dihydroartemisinin-piperaquine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia: a multisite prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* (16)3:357–365
- Ariey F, Witkowski B, Amaratunga C, et al (2014) A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 505(7481):50–5
- Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, et al (2015) Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med* 371(5):411–23
- Dondorp AM, Nosten F, Yi P, et al (2009) Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med* 361(17):455–67
- Duru V, Khim N, Leang R, et al (2015) *Plasmodium falciparum* dihydroartemisinin-piperaquine failures in Cambodia are associated with mutant K13 parasites presenting high survival rates in novel piperaquine in vitro assays: retrospective and prospective investigations. *BMC Med* 13:305
- Leang R, Barrette A, Bouth DM, et al (2013) Efficacy of dihydroartemisinin-piperaquine for treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in Cambodia, 2008 to 2010. *Antimicrob. Agents Chemother* 57(2):818–26
- Lim P, Dek D, Try V, et al (2013) Ex vivo susceptibility of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs in western, northern, and eastern Cambodia, 2011–2012: association with molecular markers. *Antimicrob. Agents Chemother* 57(11):5277–83
- Rogers WO, Sem R, Tero T, et al (2009) Failure of artesunate-mefloquine combination therapy for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in southern Cambodia. *Malar J* 8:10
- Saunders DL, Vanachayangkul P, Lon C (2014) Dihydroartemisinin-piperaquine failure in Cambodia. *N Engl J Med* 371(5):484–5
- Spring MD, Lin JT, Manning JE, et al (2015) Dihydroartemisinin-piperaquine failure associated with a triple mutant including kelch13 C580Y in Cambodia: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 15(6):683–91
- Veiga MI, Ferreira PE, Malmberg M, et al (2012) pfmdr1 amplification is related to increased *Plasmodium falciparum* in vitro sensitivity to the bisquinoline piperaquine. *Antimicrob. Agents Chemother* 56(7):3615–9
- White NJ (2004) Antimalarial drug resistance. *J Clin Invest* 113(8):1084–92
- White NJ, Pongtavornpinyo W, Maude RJ, et al (2009) Hyperparasitaemia and low dosing are an important source of antimalarial drug resistance. *Malar J* 8:253
- World Health Organization (2014) World malaria report 2014, 227 p. [http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en/]
- WWARN (2013) The effect of dosing regimens on the antimalarial efficacy of dihydroartemisinin-piperaquine: a pooled analysis of individual patient data. *PLoS Med* 10(12):e1001564; discussion e1001564