

## Intérêt d'un observatoire régional de la chimiorésistance du paludisme, problème émergent de santé publique dans la région des Guyanes.

P. Esterre, B. Volney, J.-B. Meynard & É. Legrand

(CNRCP, Institut Pasteur de Guyane, BP6010, Cayenne Cédex, Guyane française. E-mail : cnrcp@pasteur-cayenne.fr

Article n° 3264. "Santé publique". Reçu le 30 juin 2008. Accepté le 16 septembre 2008.

**Summary:** Interest for a regional observatory of malarial chemoresistance, a public health emerging problem in the Guyanas region.

A regular implementation of prophylactic and therapeutic decision trees was organized on a consensus basis in Cayenne, French Guiana in 1990, 1995 and 2002. The updated recommendations were based on the knowledge of the *in vitro* chemosensitivity profiles of the local isolates, mainly coming from big rivers (Maroni and Oyapock, frontiers with Suriname and Brazil, respectively; and more recently Approuague). Most of the patients infected by *Plasmodium falciparum* were followed by the medical staff of the main hospitals (Cayenne and Saint-Laurent) and of the peripheral health centers in remote areas. Consequently the epidemiological situation and evolution of chemoresistance have been widely observed on a long-term (since 1994) basis in the Maroni region. Yet, we have only partial information coming from the Oyapock valley, even though an important (most of the time) illegal immigration has been developing since the 90s' leading to a notable modification of the epidemiological status of malaria in this eastern region, including a regular increase of *P. vivax* infections. Presently very little *P. vivax* chloroquine (and mefloquine) resistance has been identified but this result could lead to a real public health problem in a near future.

As such, the National Reference Center on *Plasmodium* Chemoresistance in the French West Indies and Guiana (CNRCP-AG in French) is a unique observatory of malaria chemoresistance in the Guyanese shield which works with research laboratories of the Institut Pasteur, Paris. This network strategy offers a very attractive perspective for applications of modern tools, including the validation of chemoresistance molecular markers, for malaria control at both medical and public health levels. Some examples related to chloroquine and artemether resistance are given.

### Résumé :

L'établissement régulier d'arbres décisionnels prophylactiques et thérapeutiques en matière de paludisme en Guyane a été réalisé au cours de conférences de consensus. Ces recommandations se sont appuyées sur la connaissance de la situation de la chimiosensibilité *in vitro* des souches locales, provenant des principaux foyers sur les grands fleuves (Maroni et Oyapock, Approuague ces dernières années). La majorité des isolats proviennent de malades fréquentant les hôpitaux de Cayenne et de Saint-Laurent ainsi que des centres de santé du Maroni. L'épidémiologie et l'évolution de la chimiosensibilité des souches de *Plasmodium falciparum* y étaient bien suivies depuis 1994. Il n'en va pas de même du côté de la frontière brésilienne (vallée de l'Oyapock) où seules des données ponctuelles étaient disponibles jusqu'à il y a peu, alors même qu'une forte immigration se développe amenant un changement du faciès épidémiologique du paludisme dans l'est de la Guyane, avec un accroissement notable des cas à *P. vivax*.

Le centre national de référence de la chimiorésistance du paludisme aux Antilles-Guyane (CNRCP) constitue un observatoire unique de la chimiorésistance du paludisme dans la région du plateau des Guyanes et du nord de l'Amazonie brésilienne, utilisant toutes les ressources modernes (notamment en matière de marqueurs moléculaires de chimiorésistance) liées à l'interface avec les équipes de recherche de l'Institut Pasteur à Paris. Plusieurs applications récentes à des cas de diminution de sensibilité à la chloroquine, à l'artémether et à l'atovaquone sont présentées.

**Plasmodium falciparum  
chemoresistance  
in vitro tests  
hospital  
Maroni  
Oyapock  
Approuague  
Cayenne  
French Guiana  
Suriname  
Guyana  
Northern Amazon  
South America**

**Plasmodium falciparum  
chimiorésistance  
tests in vitro  
hôpital  
Maroni  
Oyapock  
Approuague  
Cayenne  
Guyane française  
Suriname  
Guyana  
Nord Amazonie  
Amérique du Sud**

## Introduction : la situation du paludisme dans la région nord amazonienne

Si la transmission dans les foyers sud-américains est plus faible que celle observée dans nombre de foyers africains, l'incidence locale du paludisme n'est pas négligeable : le Brésil signale par exemple 116 ‰ dans le Parà, état voisin de la Guyane. En Guyane française, le nombre d'accès palustres confirmés (5 987 cas en 1995, 4 687 en 2000, moins de 3 500 en 2003-2004) est inférieur à celui noté chez les voisins surinamiens (plus de 12 000 cas en 1998, 17 000 en 2001, moins de 4 000 cas en 2006) et brésiliens (plus de 550 000 cas notifiés en 1995, près de 635 000 cas en 1999 et plus de 463 000 cas en 2004 (34)). Les indices parasitaires annuels (IPA) les plus élevés d'Amérique du Sud sont observés sur le plateau des Guyanes, notamment sur le fleuve Maroni (IPA > 300) depuis le début des années 90 (30). Une conférence régionale (*Roll Back Malaria*, Lima, 1999) a entériné l'intégration de la prise en charge des cas de paludisme dans les soins de santé primaires. Suite à cette décision politique, la région américaine dans son ensemble a officiellement adopté cette stratégie OMS en l'an 2000 (1). Motif évident de satisfaction, la mortalité globale a chuté de 13 ‰ à 4 ‰ ces six dernières années (34).

En Amazonie brésilienne, où le « paludisme de frontière » (14, 31) est instable, l'espèce *Plasmodium vivax* prédomine avec un ratio voisin de 2:1 (15) et de véritables épidémies surviennent suite à l'arrivée massive d'une population non-immune en zone de forte transmission (14). On observe un phénomène de déclin rapide de l'immunité protectrice en périodes post-épidémiques, à l'origine d'une population très réceptive au parasite, avec d'importantes variations locales d'incidence (14). Le profil épidémiologique montre une association de plusieurs « facteurs de risque » (9, 10, 12, 14, 31) : hommes jeunes, installation récente, exploitation anarchique des ressources naturelles, contacts étroits (comme dans le port de Caracari, les villes d'Alto Alegre et Mucajai (Roraima) ou sur les grands fleuves guyanais) entre une communauté indigène et des migrants, démonstration d'une contamination extradomiciliaire. Notons que le Brésil est le seul pays des Amériques qui fasse état d'une forte consommation de méfloquine et de dérivés de l'artémisine depuis les années 90 (32).

Au Suriname (ex-Guyane hollandaise) voisin, un programme de lutte antivectorielle, basé sur l'utilisation de DDT sur la côte et de dieldrine dans l'intérieur, fut organisé de 1949 à 1955. Il aboutit à une quasi-éradication sur le littoral (classé en phase de maintien en 1968), mais à un échec dans l'intérieur, en grande partie du fait d'une mauvaise coopération avec les populations Bushé Nengue du fleuve et de l'absence de tout support régional de recherche appliquée notamment en entomologie (39).

Une distribution de sel amodiaquiné fut mise en place entre 1967 et 1973 sur le haut des principaux fleuves. Une épidémie en 1973, avec des souches résistantes à l'amodiaquine et d'autres d'origine brésilienne (39) à la chloroquine, eut raison de ce programme de terrain. Une stratégie de détection active des cas, avec éventuels traitements insecticides intra-domiciliaires, fut alors mise en place puis, pour des raisons logistiques, assurée après 1984 par une ONG locale (la Mission médicale) pour tout l'intérieur (37). La situation s'est ensuite aggravée (incidence annuelle de 112 ‰ dès 1994), notamment avec la guérilla des années 88-89 sur le fleuve-frontière. L'incidence n'a entamé une diminution significative qu'après 2004 (35). Récemment, une première étape en matière de coopération bilatérale avec l'Institut Pasteur de Guyane a été franchie,

Figure 1.

Localisation de la région des Guyanes (Guyana, Suriname et Guyane).  
Location of the region of Guyanas (Guyana, Suriname and French Guyana).



en matière d'aide au niveau des laboratoires de référence. Trois premiers suivis *in vivo* de la combinaison artémether-luméfantine ont été réalisés en 2003, dont deux sur le Maroni.

Peu de données récentes existent pour le Guyana (ex-Guyane britannique), alors que le suivi historique sur la période 1937 à 1976 est complet (19, 20). Pratiquement éradiqué du littoral en 1956 (campagnes de désinsectisation par le DDT et distribution de chloroquine), le paludisme a suivi le développement de voies de pénétration (36). L'incidence locale dépasse 300 ‰ dans les zones à risque (32). Un récent suivi *in vivo* a pu démontrer un risque élevé d'échec thérapeutique (de l'ordre de 50 % à J<sub>14</sub> avec la chloroquine) justifiant le passage officiel à la combinaison quinine-sulfadoxine-pyriméthamine au début des années 90 (6) et récemment à l'association artémether-luméfantine (33). Cette association médicamenteuse est, en théorie, commune aux trois Guyanes depuis 2003 (contrairement aux informations de la base AMRO, qui comporte une erreur à propos de la Guyane) et cette homogénéité thérapeutique devrait constituer un gage d'efficacité au niveau régional.

## Le CNRCP-Antilles-Guyane, outil de santé publique

Inscrit sur la liste des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles, le Centre national de référence de la chimiorésistance du paludisme (CNRCP) doit répondre à un cahier des charges précis, fixant un plan de travail triennal. Ses missions concernent à la fois l'expertise microbiologique (identification et typage des souches avec, depuis 2001, la sensibilité aux anti-infectieux), la surveillance épidémiologique, l'alerte et le conseil auprès des pouvoirs publics (via la cellule de veille sanitaire) et des professionnels de santé. Ces activités font l'objet d'une coordination par la Commission des laboratoires de référence à l'Institut Pasteur à Paris. En Guyane, l'activité auparavant régie par une convention tripartite (DDSDS-Serv. Désinf. Départemental-Institut Pasteur de la Guyane, convention 257 du 25 octobre 1993) fait maintenant l'objet d'une convention bilatérale (DSDS-IPGF, convention SP/5 du 13 mai 2002) coordonnant les efforts en matière de lutte contre les maladies transmises par les insectes.

Plus de 1 200 isolats guyanais de *P. falciparum* ont fait l'objet d'une analyse de chimiosensibilité *in vitro* à divers antipaludiques depuis 1994 (synthèse historique dans la référence 30). Depuis 2000, une politique d'assurance qualité a permis

d'améliorer la fiabilité de nos résultats, tout en minimisant les risques de biais éventuels dans l'échantillon analysé.

La part de malades d'origine brésilienne augmente régulièrement depuis le début des années 2000, en particulier au service des urgences de Cayenne (11). Le CNRCP constitue ainsi un observatoire unique de la chimiorésistance du paludisme dans la région du plateau des Guyanes et du nord de l'Amazonie brésilienne, utilisant toutes les ressources modernes (validation de marqueurs moléculaires de chimiorésistance, utilisation de puces à ADN, travail en réseau avec consultations à distance de bases de données génétiques...) liées à l'interface avec les équipes de recherche de l'Institut Pasteur, à Paris.

La prépondérance des souches provenant de la zone du Maroni (frontière Suriname) a régulièrement augmenté dans les années 1990, témoin d'une amélioration notable du recrutement du CNR dans cette zone, *a contrario* de la zone Oyapock (frontière Brésil, site-sentinelles installé à Camopi en 2002) qui n'a commencé à être régulièrement prospecté qu'en 2006. Les rares isolats d'importation, une douzaine d'origine africaine et haïtienne, ne sont pas pris en compte dans les statistiques du CNRCP, car ils ne sont pas représentatifs des souches autochtones (ils sont tous chloroquino-sensibles). La simple indication de chiffres de prévalence de souches chimiorésistantes a peu de signification en elle-même : il faut préciser en parallèle le degré de chimiorésistance (17), dont la CI<sub>50</sub> reste le mode d'expression le plus fiable (25). Il convient d'insister sur les différences (surtout notées dans les zones de forte transmission) entre évaluation *in vitro* et résistance clinique évaluée *in vivo*, cette dernière dépendant aussi de facteurs liés à l'hôte et notamment son immunité, considérée comme négligeable dans les populations guyanaises, à l'exception supposée des zones BushéNengue (milieu du fleuve Maroni) et amérindienne (hauts Maroni et Oyapock) (18). Autre facteur de divergence : la multiplicité des clones parasitaires lors d'une infection complique la situation et peut faire l'objet d'une séquestration préférentielle de certains clones (5). Ce biais supplémentaire semble limité en Guyane, étant donné le faible polymorphisme génétique des parasites locaux (3).

De 1994 à 2004, 1 214 micro-tests isotopiques de chimiosensibilité (26) de *P. falciparum* ont été réalisés sur 2 546 prélèvements adressés par différents correspondants (30). La prépondérance des souches provenant de la zone du Maroni s'est stabilisée à un niveau élevé (69 % des isolats reçus en 1998, 64 % en 2003) en rapport avec l'importance géographique de cette zone (63 à 65 % du total de cas de paludisme officiellement recensés). Ceci témoigne du bon recrutement du CNR dans cet important foyer, *a contrario* du reste du département (Approuague et surtout Oyapock). Huit antipaludiques ont été régulièrement testés (chloroquine, quinine, doxycycline, méfloquine, halofantrine, artéméthér, atovaquone, amodiaquine), par rapport à 5 souches de référence.

En Guyane française, la résistance à la chloroquine a été constatée au niveau clinique dès les années 1970, puis *in vitro* au milieu des années 1980. Ces travaux pionniers, réalisés à l'Institut Pasteur de Cayenne, révélèrent 90 % de souches résistantes *in vitro*, mais seulement 22 % *in vivo* (16). Cette perte de sensibilité à la chloroquine s'est ensuite généralisée, tandis qu'augmentait le nombre de descriptions d'échecs thérapeutiques. Parallèlement aux changements épidémiologiques, la résistance à la chloroquine est complète depuis le début des années 1990 : la molécule, initialement préconisée en traitement de première intention des accès simples (consensus 1990) a été exclue par la suite (consensus 1995). Alors que, jusqu'en 1999, tous les isolats de *P. falciparum* étudiés étaient chloroquino-résistants *in vitro*, une inversion du phénomène

était observée depuis le début de l'année 2000 dans la région du Maroni. Depuis peu, les CI<sub>50</sub> ont tendance à ré-augmenter légèrement (107 nmol/l en 2002, plus de 120 nmol/l en 2003). Surveillant cette intéressante évolution de tendance, nous avons noté une ré-augmentation du pourcentage de ce trait (de 30 % d'isolats résistants en 2000 à 75 % en 2003).

L'évolution des CI<sub>50</sub> annuelles de la quinine (moyenne proche de 200 nmol/l en 2003) la place toujours en zone de sensibilité. *A contrario*, la CI<sub>50</sub> de la méfloquine est repassée en zone intermédiaire (autour de 20 nmol/l) en 2002-2003. De plus la prévalence de souches résistantes (15 % des isolats en 2000 à plus de 48 % en 2003) augmente régulièrement. Cette évolution inquiétante *in vitro*, comme les effets secondaires signalés en prophylaxie, l'ont écartée des arbres décisionnels (consensus 2002) alors qu'elle est toujours largement utilisée au Brésil où elle a constitué le traitement « de première ligne » de 1997 à 2005 (13).

Quant à l'halofantrine, elle se situe toujours en zone intermédiaire (6,8 nmol/l en 2002 et 4,1 nmol/l en 2003) avec une prévalence élevée d'isolats résistants (plus de 39 % en 2003). Une information inquiétante à rapprocher de sa large prescription en zone de transmission permanente (21) et de la suspicion d'une activité de distribution parallèle de produits de contrefaçon (30).

Historiquement utilisée comme base d'une chimioprophylaxie collective (à base de sel amodiaquiné) de 1967 à 1978 (18), l'amodiaquine n'a ensuite été utilisée qu'au plan individuel. Elle se situe désormais en zone de sensibilité. De même pour l'atovaquone, testée depuis 2001 avant qu'elle ne soit préconisée comme alternative prophylactique sous forme d'association avec le proguanil (Malarone®) (consensus 2002).

La résistance à la doxycycline est une donnée nouvelle observée depuis 2002 (CI<sub>50</sub> établie à 12,2 nmol/l en 2002 et 10,7 nmol/l en 2003). La description cette même année d'une baisse de la chimiosensibilité *in vitro* à l'artéméthér (CI<sub>50</sub> de 8,4 nmol/l) n'a été réobservée qu'à une seule occasion en 2005. Cette dernière molécule, testée en secteur hospitalier dans le département depuis la fin 2003 en association avec la luméfántrine (Riamet®), reste globalement en zone de sensibilité (CI<sub>50</sub> pour 1998-2001 de 3,0 nmol/l, 2,5 nmol/l en 2003). La description d'un profil *in vitro* anormal sur près de 10 % de l'échantillon annuel (23), avec notamment 7 isolats présentant une CI<sub>50</sub> très élevée (> 50 nmol/l), nous a amené à déclencher en 2002 une alerte auprès de la Direction de la santé et du développement social (DSDS). Fut révélée à cette occasion une introduction illégale de médicaments provenant de Thaïlande (distribution à caractère familial dans le village de Cacao) ou du Brésil (distribution à caractère commercial liée à l'orpaillage sur le fleuve Maroni, associée à des médicaments illégalement introduits et utilisés sans surveillance médicale, telle l'association dihydroartémisinine-triméthoprime-piperaquine : Artecom®), voire même de contrefaçon (24). Autre élément d'inquiétude, le premier cas sud-américain de résistance à l'atovaquone a été décrit en 2005 sur un résident guyanais remontant le Maroni... sans prophylaxie ! (28).

Un projet du Fonds de solidarité prioritaire (FSP, Ministère des affaires étrangères) a été accepté en 2002 et finance la mise en place d'un réseau mondial d'étude de la résistance aux antipaludiques par l'intermédiaire du Réseau international des Instituts Pasteur (RIIP). Le premier volet de ce projet a pour objectif de coordonner les études de chimiosensibilité du paludisme au sein du RIIP (Sénégal, Niger, Côte d'Ivoire, RCA, Madagascar, Cambodge et Guyane). Le but final est de produire des données standardisées sur la chimiorésistance et de les rendre accessibles aux décideurs nationaux et à l'OMS.



Un second volet s'intéresse aux alternatives non isotopiques à l'étude de la sensibilité de *P. falciparum*. Il cherche à standardiser la technique des antipaludogrammes basée sur la colorimétrie, notamment la procédure DELI qui devrait modifier l'approche *in vitro*.

## Le CNRCP-AG, outil de recherche

### Étude de la biodiversité de *P. falciparum*

Une précédente étude (3) a montré que, dans la région guyanaise, la diversité génétique des parasites est peu importante, avec des possibilités limitées de recombinaison entre souches locales et invasives. Ces données montrent que la circulation des populations de parasites en Guyane française présente un nombre limité d'allèles ainsi qu'un faible nombre d'infections mixtes, contrastant avec une grande diversité génétique des parasites et la complexité des infections rapportées pour les régions africaines, asiatiques et d'autres parties de l'Amérique du Sud (17). Pour mieux caractériser cette circulation mondiale de parasites, nous avons mené de 2001 à 2006 une étude multicentrique (avec les Instituts Pasteur de Paris, du Sénégal, de Madagascar et du Cambodge), simultanée et coordonnée sur la biodiversité des populations parasitaires dans différentes situations épidémiologiques (transmission faible, moyenne ou forte, zones épidémiques). Le but est de fournir des outils efficaces à la fois aux unités de recherches exerçant en amont, ainsi qu'aux équipes d'intervention travaillant en aval, afin de guider au mieux la lutte contre la maladie. Une approche de modélisation mathématique est intégrée afin d'identifier les processus qui sous-tendent les flux de gènes régionaux et les forces principales en cause dans le maintien du polymorphisme (dérive génétique, migration d'hôtes et donc de parasites, mutations, recombinaisons). Le rôle des migrations humaines en particulier n'a pas été caractérisé avec précision (31).

### Caractérisation moléculaire de micro-épidémies survenant sur le littoral guyanais

En 2001 et 2002, deux foyers de paludisme ont été étudiés sur le littoral guyanais. Le premier dans la ville de Macouria, situé à 30 km de Cayenne, a concerné 5 patients, dont 3 ont fait un accès palustre simple et 2 un accès palustre grave (avec un patient décédé). Un seul patient a déclaré être allé dans une zone de transmission permanente (Macapa au Brésil). Quant au second foyer, notre étude a porté sur 9 patients de la ville de Matoury (banlieue de Cayenne) ayant fait des accès palustres simples sans indication d'un précédent voyage en zone d'endémie palustre. L'outil moléculaire, un typage moléculaire avec les gènes *msp1* et *msp2*, nous a permis de démontrer que la micro-épidémie de Macouria était due à une seule souche, vraisemblablement ramenée du Brésil (27). Ce type de profil épidémiologique « en étincelle », lié à un degré très limité de recombinaison génétique entre souches résidentes et parasites importés, est considéré comme le modèle de référence pour les foyers du littoral, gérés en urgence par les services de l'État (DSDS) et du département (Service départemental de désinfection, SDD). Pour autant, ce schéma n'est pas généralisable, comme l'a montré l'étude du foyer de Matoury, où les données obtenues démontrent la circulation de cinq génotypes différents (27). Reste à élargir notre point de vue, afin de déterminer l'importance relative de ces deux schémas épidémiologiques dans le contexte régional.

### Vers un marqueur génétique de virulence ?

Parmi les différents facteurs potentiels de morbidité identifiés lors d'infection par *P. falciparum*, le rôle de la séquestration

des globules rouges parasités a été mis en avant pour expliquer la sévérité de certains accès. Parmi les protéines participant à cette cytoadhérence, le rôle de PfEMP1 (synthétisé par une famille polygénique de gènes dits var) semble primordial. Une soixantaine de gènes var sont présents par génome haploïde de *P. falciparum*, mais leur expression est séquentielle (un seul var au stade de trophozoïte mûr). Le CNRCP se propose de définir précisément le « génotype de virulence » identifié à Cayenne ainsi que les cibles de PfEMP1 *in vivo*. Les particularités du contexte guyanais (faible niveau de transmission et médicalisation moderne) avaient permis de minimiser les problèmes classiques de multi-infections rencontrés dans les foyers hyperendémiques et abouti à l'identification d'une séquence (dite varD) liée à une défaillance multiviscérale lors d'accès palustre chez des patients non immuns (4). Cette première étude a pu être confirmée récemment lors d'une micro-épidémie de paludisme grave sur le littoral guyanais, où tous les parasites en cause avaient un génotype de type var D (27).

### Approche moléculaire de la chimiorésistance à l'artémether chez *P. falciparum*

Notons tout d'abord que toutes les souches amazoniennes sont hautement résistantes à la chloroquine et à l'association sulfadoxine-pyriméthamine (15). Une baisse de la sensibilité à la quinine, cette molécule ayant été largement employée au Brésil pendant la période 1983-1994 (32), et, plus récemment, à l'amodiaquine (38), à la méfloquine et l'halofantrine (13) est notée. Se confirme dans la région l'hypothèse de résistance croisée entre différentes molécules antipaludiques (notamment les amino-4-quinoléines), tant *in vitro* qu'*in vivo*. Retombée directe de l'interface avec des unités de la recherche pasteurienne, un programme de recherche d'analyse moléculaire de la diversité allélique de *P. falciparum* dans les gènes cibles des médicaments (quand ceux-ci sont identifiés) a repris les outils d'analyse de la biodiversité du parasite (cf. § 2.1). Ont été réalisées la caractérisation par séquençage systématique du polymorphisme allélique de cinq gènes identifiés comme cibles de la chloroquine, de la sulfadoxine, de la pyriméthamine et de l'atovaquone ainsi que l'exploration du polymorphisme des cibles potentielles (codant pour l'enzyme PfATP6) des dérivés de l'artémisinine. Un récent travail de recherche a incorporé des souches « résistantes » *in vitro* étudiées en 2002 au CNRCP (23) et retrouvées 3 ans plus tard (29), tandis qu'a débuté en 2005 un suivi *in vivo* d'une cohorte de malades traités par Riamet® (F. DJOSSOU, CHAR, Cayenne).

### Polymorphisme de *P. vivax* en Guyane

Notons que la chloroquinorésistance de *P. vivax* a été prouvée en Asie du Sud-Est et, plus récemment, au Guyana et en Amazonie brésilienne (6, 33). Cette espèce pourrait constituer un prochain problème thérapeutique d'envergure internationale (33), d'autant que les co-infections *P. falciparum* - *P. vivax* ne sont pas rares. Cette seconde espèce de plasmodie, longtemps négligée, est en passe de créer un problème émergent de santé publique : non seulement elle représente la majorité des souches d'origine brésilienne importées en Guyane (principalement par les orpailleurs) (11), même si le phénomène n'est pas aussi important au Suriname et au Guyana (35), mais de plus une résistance à la chloroquine (voire à la primaquine) est notée dans la région (33).

### Recherche de substances naturelles à activité anti-paludique

D'autres volets, portant sur l'étude de l'efficacité de nouvelles molécules (notamment extraites de la biodiversité tropicale)

ont fait l'objet d'un projet de recherche de l'Institut de recherche pour le développement (IRD) et du CNRCP. Nous avons accueilli entre 2003 et 2006 une équipe de l'IRD, menée par Éric DEHARO, UMR 152 IRD-UPS « pharmacochimie des substances naturelles ». Au total, ont été évalués 200 extraits de plantes guyanaises ainsi que 30 remèdes traditionnels et 27 produits de synthèse. Parmi ce matériel biologique, un extrait de plante fébrifuge (utilisée par les Indiens Palikur), ainsi que deux remèdes traditionnels se sont révélés particulièrement intéressants et font l'objet d'études cellulaires et moléculaires plus poussées en collaboration avec divers laboratoires spécialisés (7, 8).

## Réflexions sur le « cas » guyanais

Le CNRCP utilise un certain nombre de ressources modernes : validation de marqueurs moléculaires de chimiorésistance, développement de puces à ADN, travail en réseau avec consultations à distance de bases de données génétiques (2) liées à l'interface avec les équipes de recherche de l'Institut Pasteur, à Paris, et du RIIP. Les données obtenues, tant phénotypiques (chimiosensibilité *in vitro*) que moléculaires (génotypage), sont présentées lors des réunions de consensus thérapeutique qui entérinent une nouvelle politique locale en matière de contrôle du paludisme. Cumulant des problèmes sanitaires spécifiques des pays en développement (pathologie infectieuse, seconde cause de mortalité) et d'autres propres aux pays développés, la Guyane présente un profil complexe préoccupant sur le plan de la santé publique (Haut comité à la santé publique, 2002). La disponibilité des laboratoires du CNRCP constitue une intéressante opportunité d'utiliser l'approche d'épidémiologie moléculaire dans un contexte favorable (faible polymorphisme génétique des parasites, transmission modérée et souvent épisodique, quasi-absence d'immunité protectrice, réseau médical expérimenté, présence d'un laboratoire de référence dans la zone d'endémie). Les mouvements de population, dont les portes d'entrée ont récemment été déportées sur le Suriname, suite à la politique répressive mise en place en Guyane, sont liés à l'orpaillage illégal et aux travaux de déforestation associés. Le danger vient du fait qu'ils maintiennent une population très réceptive (non immune et vivant dans un contexte d'hygiène défaillante), utilisant des schémas thérapeutiques dangereux (traitements arrêtés trop tôt, sans surveillance médicale et avec importation illégale de produits de contrefaçon) et fortement mobile. L'invasion de parasites multi-résistants à partir du Brésil a déjà été identifiée au Venezuela (14) et a été supposée en Guyane française lors d'une micro-épidémie sur le littoral (27).

## Conclusion

Face à ces deux problèmes de santé publique (celui connu avec *P. falciparum* et celui émergent avec *P. vivax*), nous préconisons la mise en place d'un réseau de surveillance nord-amazonien de la chimiorésistance, et d'une coopération réelle sur le terrain (en adoptant une logique de consensus thérapeutique et prophylactique, ce qui semble actuellement le cas pour les trois Guyanes), en particulier dans les zones frontalières. Une telle coopération régionale s'organise progressivement sous l'égide de l'OMS (et sa branche américaine la PAHO) et du Ministère français des affaires étrangères. Suite au dernier atelier *Roll Back Malaria* (Cayenne en octobre 2002), la coopération avec le Suriname a été relancée (transfert technique au niveau des laboratoires, formation d'entomologistes médicaux, analyse comparée des profils de chimiorésistance des souches de parasites). Une participation du CNRCP au Réseau amazonien de surveillance des maladies émergentes,

structure bénéficiant d'un soutien américain (via la PAHO), est souhaitée par les autorités régionales (État d'Amapà, DSDS de Guyane). Ces initiatives devraient prochainement étendre le terrain d'analyse du CNRCP aux régions frontalières, notamment avec le géant brésilien qui cumule la majorité des cas sud-américains de paludisme (35), comme de maladies tropicales négligées (22). De lui, plus que d'autres pays, dépend donc la réalité de l'objectif affiché d'une réduction de 75 % de l'incidence du paludisme américain entre 2000 et 2015 (35).

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier les différents collègues en charge de cette activité de référence à l'Institut Pasteur de la Guyane depuis 1994, ainsi que leurs correspondants cliniciens, qui au fil du temps ont permis d'acquérir une expérience utile, tant au plan recherche que santé publique. Un remerciement appuyé également à O. MERCEREAU-PUJALON (CNRS URA2581, Institut Pasteur, Paris) dont le soutien scientifique et stratégique ne s'est jamais démenti au fil des années.

## Références bibliographiques

1. ALDIGHIERI S, EERSEL M, MALATRE X, OOMS M – Le Suriname, un partenaire clef pour une coopération régionale en santé publique dans les Guyanes. *Méd Trop*, 2000, **60**, 323-327.
2. AMBROISE-THOMAS P – Génomique, biologie moléculaire et paludisme : quelles avancées médicales ? *Bull Soc Pathol Exot*, 2004, **97**, 155-160. [<http://www.pathexo.fr/pages/bull-somm/2004-T97/2004-3.html>]
3. ARIEY F, CHALVET W, HOMMEL D, PENEAU C, HULIN A *et al.* – *Plasmodium falciparum* parasites in French Guiana: limited genetic diversity and high selfing rate. *Am J Trop Med Hyg*, 1999, **61**, 978-985.
4. ARIEY F, HOMMEL D, LE SCANF C, DUCHEMIN JB, PENEAU C *et al.* – Association of severe malaria with a specific *Plasmodium falciparum* genotype in French Guiana. *J Infect Dis*, 2001, **184**, 237-241.
5. AUBOUY A, MAYOMBO J, KEUNDJIAN A, BAKARY M, LE BRAS J, DELORON P – Short report: lack of prediction of amodiaquine efficacy in treating *Plasmodium falciparum* malaria by *in vitro* tests. *Am J Trop Med Hyg*, 2004, **71**, 294-296.
6. BAIRD JK, TIWARI T, MARTIN GJ, TAMMINGA CL, PROUT TM *et al.* – Chloroquine for the treatment of uncomplicated malaria in Guyana. *Ann Trop Med Parasitol*, 2002, **96**, 339-348.
7. BERTANI S, BOURDY G, LANDAU I, ROBINSON JC, ESTERRE P & DEHARO E – Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. *J Ethnopharmacol*, 2005, **98**, 45-54.
8. BERTANI S, HOUËL E, STIEN D, CHEVOLOT L, JULLIAN V *et al.* – Simalikalactone D is responsible for the antimalarial properties of an Amazonian traditional remedy made with *Quassia amara* L. (*Simaroubaceae*). *J Ethnopharmacol*, 2006, **108**, 155-157.
9. CAMARGO LMA, FERREIRA MU, KRIEGER H, DE CAMARGO EP & DA SILVA LP – Unstable hypoendemic malaria in Rondonia (Western Amazon region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in agro-industrial rural settlement. *Am J Trop Med Hyg*, 1994, **51**, 16-25.
10. CAMARGO LMA, DAL COLLETO GMD, FERREIRA MU, DE MELLO GURGEL S, ESCOBAR AL *et al.* – Unstable hypoendemic malaria in Rondonia (Western Amazon region, Brazil): seasonal variation and risk groups in an urban locality. *Am J Trop Med Hyg*, 1996, **55**, 32-38.
11. CARME B – Substantial increase of malaria in inland areas of eastern French Guiana. *Trop Med Int Health*, 2005, **10**, 154-159.
12. CARME B & VENTURIN C – Le paludisme dans les Amériques. *Méd Trop*, 1999, **59**, 298-302.
13. CERUTTI CJ, MARQUES C, ALENCAR FEC, DURLACHER RR, ALWEN A *et al.* – Antimalarial drug susceptibility testing of *Plasmodium falciparum* in Brazil using a radioisotope method. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1999, **94**, 803-809.
14. CHAVES SS & RODRIGUES LC – An initial examination of the epidemiology of malaria in the state of Roraima, in the Brazilian Amazon basin. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2000, **42**, 239-245.

15. CUNHA ML, PIOSEVAN-ALVES F & PANG LW – Community-based program for malaria case management in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*, 2001, **65**, 872-876.
16. DEDET JP, GERMANETTO P, CORDOLIANI G, BONNEVIE O & LEBRAS J – Note sur l'activité *in vitro* de divers antipaludéens contre 32 isolats de *Plasmodium falciparum* de Guyane française. *Bull Soc Pathol Exot*, 1988, **81**, 88-93.
17. DRUILHE P & BRASSEUR P – Polychimiorésistances du paludisme : en un combat douteux. *Ann Inst Pasteur/Actualités*, 1994, **5**, 292-306. DOI:10.1016/S0399-077X(00)88281-5
18. ESTERRE P, CORDOLIANI G, GERMANETTO P & ROBIN Y – Épidémiologie du paludisme en Guyane française. *Bull Soc Pathol Exot*, 1990, **83**, 193-205.
19. GIGLIOLI G – Changes in the pattern of mortality following the eradication of hyperendemic malaria from a highly susceptible community. *Bull World Health Organ*, 1972, **46**, 181-202.
20. GIGLIOLI G, CH'EN WI, MARCHANT DE & HOWELL P – Malaria eradication in Guyana. *Trop Doct*, 1976, **6**, 126-132.
21. GRUENFELD J – *Chimiorésistance de Plasmodium falciparum dans un village de Guyane française. Comparaison des tests de chimiorésistances in vivo et in vitro chez des patients traités par l'halofantrine*. Thèse Doc Méd, Paris VII, septembre 2001.
22. HOTEZ PJ – The giant anteater in the room: Brazil's neglected tropical diseases problem. *PLoS Negl Trop Dis*, 2008, **2**, e177. doi:10.1371/journal.pndt.0000177
23. JAMBOU R, LEGRAND E, NIANG M, KHIM N, LIM P *et al.* – Resistance of *Plasmodium falciparum* field isolates to *in vitro* artemether and point mutations of the SERCA-type PfATPase6. *Lancet*, 2005, **366**, 1960-1963.
24. LANDRIN FX – *Anémie hémolytique après consommation présumée d'halofantrine*. Thèse Doc Méd, Nantes, octobre 2002.
25. LEBRAS J & BASCO LK – Chimiorésistances des *Plasmodiums*. In: DANIS ET MOUCHET (Eds), *Paludisme*. Ellipses, 1991, pp. 146-167.
26. LEBRAS J & DELORON P – *In vitro* study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: evaluation of a new semi-micro-test. *Am J Trop Med Hyg*, 1983, **32**, 447-451.
27. LEGRAND E, VOLNEY B, LAVERGNE A, TOURNEGROS C, FLORENT L *et al.* – Molecular analysis of two local *Plasmodium falciparum* malaria outbreaks of the French Guiana coast confirms the msp-1 B-K1/varD genotype association with severe malaria. *Malaria Journal*, 2005, **4**, 26 (consultable en ligne sur le site: www.malariajournal.com ).
28. LEGRAND E, DEMAR M, VOLNEY B, EKALA MT, QUINTERNET M *et al.* – First case of emergence of atovaquone resistance in *Plasmodium falciparum* during second-line atovaquone-proguanil treatment in South America. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, **51**, 2280-2281.
29. LEGRAND E, VOLNEY B, MEYNARD JB, ESTERRE P, MERCEREAU-PUJALON O – Resistance to dihydroartemisinin. *Emerg Infect Dis*, 2007, **13**, 808-809.
30. LEGRAND E, VOLNEY B, MEYNARD JB, MERCEREAU-PUJALON O & ESTERRE P – *In vitro* monitoring of *Plasmodium falciparum* drug resistance in French Guiana: a synopsis of continuous assessment from 1994 to 2005. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, **52**, 288-298.
31. MARQUES AC – Human migration and the spread of malaria in Brazil. *Parasitol Today*, 1987, **3**, 166-170.
32. MENEZES CM, KIRCHGATTER K, DI SANTI SM, PAULA GA & FERREIRA EL – *In vitro* evaluation of quinidine sensitivity in Brazilian *Plasmodium falciparum* isolates: comparative analysis to quinine and chloroquine. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2001, **43**, 221-226.
33. ORG MOND SANTÉ – La situation du paludisme dans le monde en 1994, partie II: les Amériques. *Relevé Epid Hebdom*, 1997, **72**, 277-280.
34. OMS-AMRO, 2004. base de données publiée récemment par le site RBM : <http://mosquito.who.int/cgi-bin/rbm/rbmportal/custom/home/mal/login.jsp>
35. PAHO – Annual malaria cases and deaths in the Americas, 1998-2006. Doc. OMS-PAHO, 2007.
36. RAMBAJAN I – Highly prevalent *falciparum* malaria in north west Guyana: its development history and control problems: its development, history and control problems. *Bull Pan Am Health Organ*, 1994, **28**, 193-201.
37. ROZENDAAL JA – *Epidemiology and control of malaria in Suriname with special reference to Anopheles darlingi*. ICG Publ, Dordrecht, Netherlands, 1990.
38. SEGURADO AA, DI SANTI SM, SHIROMA M – *In vivo* and *in vitro* *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine, amodiaquine and quinine in the Brazilian Amazon. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 1997, **39**, 85-90.
39. SCHAAPVELD K – *Integration of antimalarial activities into basic Health services in Suriname*. ICG Publ, Dordrecht, Netherlands, 1984.