

DEUX CAS D'INFECTION HUMAINE ACCIDENTELLE  
PAR *PLASMODIUM CYNOMOLGI BASTIANELLII*.  
ETUDE CLINIQUE ET SEROLOGIQUE

par

P. DRUILHE<sup>1</sup>, J. F. TRAPE<sup>1</sup>, J. P. LEROY<sup>2</sup>, C. GODARD<sup>2</sup> & M. GENTILINI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Central de Parasitologie et Consultation des Maladies Tropicales et Parasitaires,  
47, Boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France

<sup>2</sup>Centre Nicolas Grillet, 94400 Vitry, France

**Résumé** — Deux cas récents de contamination accidentelle par *P. cynomolgi bastianellii* rappellent la réceptivité de l'homme à cet hématozoaire du singe et la nécessité de protéger ceux qui le manipulent. Lorsque manque la preuve parasitologique, l'étude immunologique qui fait appel ici à deux techniques, l'immunofluorescence indirecte et l'électrosynérèse, et 3 antigènes, *P. falciparum*, *P. cynomolgi* et *P. knowlesi*, peut aider à préciser l'espèce plasmodiale en cause.

**KEYWORDS** : *Plasmodium cynomolgi*; Malarial Serology; Laboratory Infection

*Plasmodium cynomolgi bastianellii* est un hématozoaire du singe *Macaca irus* de Malaisie, décrit en 1959 par P. C. C. Garnham. Deux cas de contamination humaine furent signalés l'année suivante par Eyles *et al.* (1960). Ces auteurs, utilisant la souche isolée par Garnham, parvinrent également à contaminer des volontaires tant par injections de sang parasité que par piqures d'anophèles nourris sur singes ou hommes infectés.

Depuis, cinq observations de transmission accidentelle (Schmidt *et al.*, 1961; Garnham *et al.*, 1962; Most, 1973; Cross *et al.*, 1973) ont été signalées tandis qu'étaient pratiquées plusieurs séries d'infestations de volontaires humains dans un but expérimental (Beye *et al.*, 1961; Contacos *et al.*, 1962; Kuvin *et al.*, 1972) ou thérapeutique (Schneider, 1961).

Nous rapportons deux nouveaux cas de paludisme à *P. cynomolgi bastianellii* survenus accidentellement chez des techniciens travaillant dans un laboratoire de recherche où est entretenu le cycle de cette espèce. La preuve parasitologique de l'infection n'a pu être apportée que dans un cas; dans l'autre, cependant, les données épidémiologiques et sérologiques permettent de suspecter fortement ce diagnostic.

**Observation n° 1**

Mademoiselle L. C., 28 ans, s'occupe épisodiquement de l'entretien d'une souche de *P. cynomolgi bastianellii* maintenue sur singe Rhesus (*Macaca mulatta*). A cette occasion, elle a manipulé des moustiques infectés (*Anophèles freeborni*) et se souvient d'avoir été piquée à plusieurs reprises.

21 FEVR. 1985

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 16.824 ex 1

Cote B

16.824 ex 1  
B

Les 25, 29 et 31 mai 1977, elle présente trois clochers thermiques à 39°-40°, accompagnés de céphalées, de nausées, de myalgies diffuses et d'une asthénie intense. Son médecin traitant prescrit une antibiothérapie et un traitement à l'aveugle par la chloroquine qui est arrêté après trois jours. Une goutte épaisse est toutefois pratiquée une semaine plus tard; elle ne met en évidence aucun parasite. L'hémogramme montre une anémie modérée (3,7 M de globules rouges, 12 g d'hémoglobine) et une leucopénie à 3.500 leucocytes.

Tandis que la malade demeure apyrétique, mais asthénique, des examens sérologiques nous sont adressés le 6 et le 23 juin; ils montrent un taux notable d'anticorps (1/1.200<sup>e</sup> et 1/1.800<sup>e</sup>) en immunofluorescence indirecte vis-à-vis de l'antigène *P. falciparum*.

Le 28 juin survient un nouvel accès fébrile à 38°6. Le médecin traitant entreprend une nouvelle cure de chloroquine (500 mg/jour pendant cinq jours) et là encore la goutte épaisse effectuée après le début de ce traitement est négative; aucun trouble n'est signalé depuis lors.

Mlle L. C. n'a effectué que deux voyages à l'étranger, l'un au Portugal en 1972 et l'autre en Inde en 1969, durant lequel elle s'est soumise à une chimioprophylaxie par la chloroquine poursuivie pendant trois semaines après son retour.

Pour tenter de préciser l'étiologie de cette fièvre survenue chez une jeune femme exposée aux piqûres de moustiques infectés par un *Plasmodium* animal, et dont le seul séjour en zone d'endémie remonte à huit ans, une étude sérologique plus détaillée est entreprise.

Chaque sérum sera étudié par deux techniques vis-à-vis de plusieurs antigènes, les résultats seront contrôlés à trois reprises. L'immunofluorescence indirecte (IFI) est pratiquée sur frottis mince de globules rouges parasités par *P. falciparum* (obtenus chez un malade ou par culture *in vitro*), avec un conjugué fluorescent de l'Institut Pasteur dilué au 1/50<sup>e</sup> et une contre-coloration par le bleu d'Evans au 1/50.000<sup>e</sup>. L'antigène *P. c. bastianellii* pour la réaction d'IFI est préparé à partir de la souche entretenue au laboratoire où travaille la malade. Par ailleurs, la technique de co-électrosynérèse sur acétate de cellulose (ES) est réalisée comme décrit précédemment (Druihe *et al.*, 1978) avec un antigène soluble extrait de *P. falciparum* et un autre extrait de *P. c. bastianellii*; un extrait de *P. knowlesi* sera également testé.

Les résultats sont regroupés dans le tableau 1. On observe une positivité initiale et surtout une augmentation, d'une part, du taux des anticorps en IFI qui passe par un maximum environ un mois et demi après le premier accès fébrile et, d'autre part, du nombre d'arcs en ES; les réactions sont plus nettement positives vis-à-vis de l'antigène *P. c. bastianellii* que de l'antigène *P. falciparum*; cette différence est plus nette en électrosynérèse.

Cette forte positivité, tant en IFI qu'en ES permet d'affirmer un paludisme immunologique, ou tout au moins un contact intime entre l'organisme et des *Plasmodium*. La chronologie et l'élévation des titres d'anticorps aux examens successifs indiquent que cette infection est survenue récemment; les troubles présentés par la malade peuvent lui être raisonnablement rapportés.

TABLEAU 1

Observation n° 1 : Résultats sérologiques en immunofluorescence indirecte (IFI) (Inverse des titres) et en électrosynérèse (ES) (nombre d'arcs de précipitation)

| Date       | Ag. <i>P. falciparum</i> |            | Ag. <i>P. c. bastianellii</i> |            |
|------------|--------------------------|------------|-------------------------------|------------|
|            | IFI                      | ES         | IFI                           | ES         |
| 6- 6-1977  | 1.200                    | 1 (faible) | 1.800                         | 1          |
| 23- 6-1977 | 1.800                    | 1          | 3.200                         | 3 (denses) |
| 11- 7-1977 | 1.200                    | 0          | 5.400                         | 2          |
| 27- 7-1977 | 600                      | 0          | 1.200                         | 2          |
| 23- 8-1977 | 400                      | 0          | 600                           | 2          |
| 18-10-1977 | 100                      | 0          | 200+                          | 1 (faible) |
| 6-12-1977  | 100                      | 0          | 0                             | 0          |

La preuve parasitologique n'ayant pu être apportée, l'espèce plasmodiale ne peut être que suspectée sur les données épidémiologiques et sérologiques. Celles-ci ne sont pas compatibles avec une affection à *P. falciparum* ou *P. malariae* (dans notre expérience, les sérums de sujets infectés par une de ces deux espèces ont des titres d'anticorps plus faibles vis-à-vis de *P. c. bastianellii*). Le profil présenté par Mlle L. C. est compatible, par contre, avec une infection par *P. vivax* (ou *P. ovale*) ou dans le cas présent à une infection humaine par *P. c. bastianellii* qui doit être suspectée étant donné l'anamnèse. Ces deux hypothèses sont plausibles sur le plan immunologique, les infections à *P. vivax* croisant à taux assez élevé sur antigène *P. cynomolgi*; par contre, les données épidémiologiques plaident en faveur d'une contamination récente par *P. c. bastianellii*. En effet, le séjour en Inde de Mlle L. C. remonte à huit ans et les accès de reviviscence dus à *P. vivax* ne surviennent habituellement que dans un délai maximum de 2 à 5 ans, bien que quelques cas plus tardifs aient été exceptionnellement rapportés.

#### Observation n° 2

Monsieur B. C., 30 ans, adressé le 24 mai 1979 dans notre service, présente depuis quatre jours des nausées, céphalées et arthralgies, accompagnées depuis deux jours de clochers thermiques à 40°-41° avec frissons et sueurs.

Ce malade n'a jamais quitté la France, sauf pour un séjour de vacances en Espagne en 1973, et travaille dans le même laboratoire que Mlle L. C. où il manipule des anophèles infectés par la même souche de *P. c. bastianellii*. Il se rappelle avoir été piqué une dizaine de jours avant le début des troubles.

Une goutte épaisse pratiquée en ville la veille de l'hospitalisation, à la demande de son médecin traitant, était négative.

L'examen clinique, à l'entrée dans le service, met en évidence une fièvre à 40°2 et une splénomégalie stade II. Il existe une leucopénie à

3.000 GB mais pas d'anémie; les autres explorations biologiques ne montrent pas d'anomalie notable.

Sur le frottis et la goutte épaisse, on observe de très rares hématozoaires (une hématie parasitée pour 20.000); il s'agit surtout de trophozoïtes jeunes dans des hématies parsemées de grains de Schüffner et de quelques très rares schizontes. Un examen prolongé permettra d'identifier *P. cynomolgi bastianellii*.

Le traitement, cinq comprimés à 100 mg par jour de chloroquine pendant cinq jours, est institué le jour même. La goutte épaisse est encore positive le lendemain et se négative le deuxième jour en même temps qu'est obtenue l'apyrexie.

Deux singes Rhesus sains (*Macaca mulatta*) sont inoculés par voie intra-veineuse, chacun avec 2 ml de sang hépariné, prélevé sur le patient le jour de son admission. Les hématozoaires sont décelés le 24<sup>e</sup> jour chez le premier singe et le 17<sup>e</sup> chez le second. L'examen des lames confirme qu'il s'agit bien de *P. cynomolgi bastianellii*. Aux 31<sup>e</sup> et 21<sup>e</sup> jours, les parasitémiés ayant atteint 5 p. cent et 2,5 p. cent, les singes sont traités par la chloroquine.

TABEAU 2

Observation n° 2 : Résultats obtenus chez le deuxième malade en immunofluorescence (IFI) (inverse des titres) et en électrosynérèse (ES) (nombre d'arcs de précipitation)

| Date      | <i>P. falciparum</i> |    | <i>P. c. bastianellii</i> |    |
|-----------|----------------------|----|---------------------------|----|
|           | IFI                  | ES | IFI                       | ES |
| 25-5-1979 | 0                    | 0  | 0                         | 0  |
| 5-6-1979  | 1.800                | 0  | 3.600                     | 1  |
| 12-6-1979 | 1.800                | 0  | 5.400                     | 2  |
| 18-7-1979 | 0                    | 0  | 1.800                     | 0  |
| 5-9-1979  | 0                    | 0  | 600                       | 0  |

Comme pour le premier malade, une étude sérologique détaillée est entreprise dont les résultats sont regroupés dans le tableau 2. L'évolution sérologique observée est en tous points comparable à celle de Mlle L. C., mais ici la première sérologie pratiquée plus précocément est négative. La positivation qui suit et l'élévation rapide des anticorps traduisent une infection récente; là encore, les réactions sont plus franchement positives vis-à-vis de l'antigène *P. c. bastianellii*. Cette différence est particulièrement évidente en électrosynérèse puisque le test est négatif vis-à-vis de l'antigène hétérologue *P. falciparum*. On peut noter que chez ce malade traité plus précocément que le premier, les réactions sérologiques se négativent rapidement.

Chez les singes (tableau 3), les sérologies initiales avant inoculation sont négatives; elles se positivent le 18<sup>e</sup> jour dans les deux cas. Les réactions immunologiques sont franches tant en IFI qu'en ES vis-à-vis de l'antigène homologue tandis qu'elles demeurent faibles en IFI vis-à-vis de *P. falciparum* et négatives en électrosynérèse.

TABLEAU 3

Sérologie des deux singes Rhesus injectés chacun avec 2 ml de sang du deuxième malade le 25 mai 1979

| Date             | <i>P. falciparum</i> |    | <i>P. c. bastianellii</i> |             |
|------------------|----------------------|----|---------------------------|-------------|
|                  | IFI                  | ES | IFI                       | ES          |
| <i>Singe 208</i> |                      |    |                           |             |
| 28-5-1979        | 0                    | 0  | 0                         | 0           |
| 5-6-1979         | 0                    | 0  | 0                         | 0           |
| 12-6-1979        | 0                    | 0  | 200                       | 0           |
| 19-6-1979        | 200                  | 0  | 400                       | 0           |
| 25-6-1979        | 200                  | 0  | 600                       | 2 (faibles) |
| <i>Singe 209</i> |                      |    |                           |             |
| 28-5-1979        | 0                    | 0  | 0                         | 0           |
| 5-6-1979         | 0                    | 0  | 0                         | 0           |
| 12-6-1979        | 200 <sup>1</sup>     | 0  | 1.800                     | 1 (faible)  |
| 19-6-1979        | 200 <sup>+</sup>     | 0  | 400                       | 2 (faibles) |

### Commentaires et discussion

Bien qu'ayant acquis une quasi certitude sérologique, il nous était difficile, en l'absence de preuve parasitologique, d'affirmer la responsabilité de *P. cynomolgi* dans la première observation.

Le deuxième cas survenu dans les mêmes circonstances, comportant la mise en évidence de l'hématozoaire dans le sang et la preuve indiscutable de son infectiosité pour le singe Rhesus, apporte s'il était nécessaire des éléments de confirmation pour le premier.

Il est bien établi que *P. c. bastianellii* peut évoluer chez l'homme; la réceptivité a été étudiée à l'occasion d'infections surtout expérimentales ou parfois à visées thérapeutiques.

Toutefois, la transmission accidentelle est rare, sept cas seulement à notre connaissance ont été rapportés.

Il faut noter que nos deux malades étaient de race blanche; la sensibilité de l'homme à *P. cynomolgi* pourrait dépendre d'un facteur génétique comme dans le cas de *P. vivax* dont il est proche; Beye *et al.* (1961) ont pu contaminer 11 sujets de race blanche sur 12, mais aucun de 7 sujets de race noire.

La faible parasitémie observée (maximum 250 parasites/mm<sup>3</sup>), d'un niveau comparable à celle des autres cas décrits, contrastait, surtout chez le deuxième patient, avec la sévérité de l'atteinte clinique.

L'analyse sérologique souligne l'intérêt des deux techniques utilisées et la valeur diagnostique de l'utilisation conjointe de plusieurs antigènes.

Il faut remarquer que la spécificité de la réponse humorale est grossière au début et s'affine à mesure que l'on s'éloigne de l'accès. En effet, chez le premier malade, on détecte au début des anticorps réagissant de façon croisée avec *P. falciparum*, puis leur taux diminue rapidement dès le deuxième mois tandis que, vis-à-vis de *P. c. bastianellii*, le taux des

anticorps augmente. Cette réaction croisée fugace initiale a été retrouvée avec un autre antigène hétérologue, *P. knowlesi*; les trois premiers prélèvements de sérum présentaient, respectivement, trois, deux et un arcs en électrosynérèse, les suivants étaient négatifs.

**Two accidental human infections by *Plasmodium cynomolgi bastianellii*. A clinical and serological study.**

*Summary* — Two recent additional cases of accidental human infection by *P.c. bastianellii* remind us that man is highly susceptible to this simian parasite. Immunological investigation by the fluorescent antibody test and by counterimmunoelectrophoresis using different antigens, demonstrates that in some cases these techniques are helpful to determine the plasmodial species.

**Twee gevallen van accidentele menselijke infectie door *Plasmodium cynomolgi bastianellii*. Een klinische en serologische studie.**

*Samenvatting* — Twee gevallen van laboratoriumbesmetting door *P.c. bastianellii* wijzen er nog eens op dat de mens vatbaar is voor deze apenparasiet. Immunologische technieken zoals de indirecte immunofluorescentietest en de tegenstroomimmunoëlectroforesis met gebruik van verschillende antigenen kunnen in sommige gevallen het *Plasmodium* species helpen bepalen.

Reçu pour publication le 4 août 1980.

REFERENCES

- Beye, H. K., Getz, M. E., Coatney, G. R., Elder, H. A., Eyles, D. E. (1961) : Simian malaria in man. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **10**, 311-316.
- Contactos, P. G., Elder, H. A., Coatney, G. R., Genther, C. (1962) : Man to man transfer of two strains of *Plasmodium cynomolgi* by mosquito bites. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **11**, 186-193.
- Cross, J. H., Hsu-Kuo, M. Y., Lien, J. C. (1973) : Accidental human infection with *Plasmodium cynomolgi bastianellii*. *S. E. Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.*, **4**, 481-483.
- Eyles, D. E., Coatney, G. R., Getz, M. E. (1960) : *Vivax*-type malaria parasite of macaques transmissible to man. *Science* **131**, 1812-1813.
- Drullhe, P., Monjour, L., Richard-Lenoble, D., Gentilini, M. (1978) : L'immunoélectro-diffusion sur membrane d'acétate de cellulose pour le diagnostic sérologique du paludisme humain. *Path. Biol.*, **26**, 169-172.
- Garnham, P. C. C. (1959) : A new subspecies of *Plasmodium cynomolgi*. *Riv. Parassit.*, **20**, 273-278.
- Garnham, P. C. C., Molinari, V., Shute, P. G. (1962) : Differential diagnosis of *bastianellii* and *vivax* malaria. *Bull. W. H. O.* **27**, 199-202.
- Kuvin, S. F., Tobie, J. E., Evans, C. B., Coatney, G. R., Contactos, P. G. (1962) : Fluorescent antibody studies on the course of antibody production and serum globulin levels in normal volunteers infected with human and simian malaria. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **11**, 429-436 and 589-596.
- Most, H. (1973) : *Plasmodium cynomolgi* malaria: Accidental human infection. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **22**, 157-158.
- Schmidt, L. H., Greenland, R., Genther, C. S. (1961) : The transmission of *Plasmodium cynomolgi* to man. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **10**, 679-688.
- Schneider, J. (1961) : *P. cynomolgi bastianellii*: Hematozoaire du singe transmissible à l'homme. Essai d'impaludation thérapeutique. *Bull. Soc. Path. Exot.*, **54**, 7-11.