

2

MISES AU POINT

INTERET DU DOSAGE DES ANTICORPS PALUSTRES CHEZ LES SUJETS NON IMMUNS EN ZONE HOLOENDEMIQUE

par

J.P. CHIPPAUX (1), C. DU SAUSSAY (2), et M. AKOGBETO (3).

SUMMARY

INTEREST OF MALARIAL ANTIBODY DETERMINATION IN NON-IMMUN PEOPLE IN HOLOENDEMIC AREA.

The use of indirect immunofluorescence in non-immun people under heavy risk of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria has a fair interest for diagnosis because of atypical clinic features and poor parasite density in thin smears.

Indirect immunofluorescence has been used in Cotonou where chloroquine resistant strains of *Plasmodium falciparum* was described since 1986. This lead to detect numerous cases of malaria with negative thin smear. Under epidemiological considerations, non autochthonous people's antibody acquiring curve related to residence time in endemic area is parallel to the autochthonous children's antibody acquiring curve. However, average of antibody titer is strongly lesser in non-autochthonous population even after living more than 12 years in holoendemic area. This can reveal a lesser capacity to acquire a premunition in non-autochthonous people due to a lesser exposure or to prophylaxia. This has to be pointed out when prophylactic strategies are proposed to those who live endemic areas.

Authors propose to look back upon past disaffected prophylactic methods as repellents, insecticides, mosquito nets, air conditioned, etc.

I. INTRODUCTION.

La récente apparition de souches de *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistantes à Cotonou, au Bénin (LE BRAS et Coll.) (8), ainsi que l'importante recrudescence du nombre de cas de paludisme chez les expatriés, ont soulevé de nombreux problèmes prophylactique, diagnostiques et thérapeutiques.

Il est désormais bien connu que le paludisme à *Plasmodium falciparum*, lorsqu'il s'agit d'une souche chloroquino-résistante, peut se présenter sous un aspect atypique, voire trompeur, chez les sujets non immuns sous prophylaxie par la chloroquine (CHARMOT et COULAUD) (2). Parmi les caractères cliniques évoqués par ces auteurs, la faible densité parasitaire observée chez les maladies constitue un handicap majeur pour le diagnostic précoce. C'est pourquoi nous avons systématiquement associé au frottis une sérologie palustre. Celle-ci nous a en outre permis de préciser certaines caractéristiques épidémiologiques de cette population particulière.

II. MATERIEL ET METHODES.

Sujets étudiés

201 personnes, toutes volontaires, ont participé à cette étude qui s'est déroulée d'août 1987 à juin 1988. Cette période inclue la saison de transmission maximum (de mai à novembre), en relation avec une nette dominance d'*Anopheles gambiae s.s.* (AKOGBETO et Coll. sous presse) sur les autres espèces d'*Anophèles* connues dans la région de Cotonou. 65 sujets ne présentaient aucun signe clinique d'appel et ont été prélevés, une ou plusieurs fois, pour une analyse systématique. Les 136 autres consultaient au Centre Médical de la Mission de Coopération pour un épisode fébrile récent, fortement évocateur de paludisme. L'ensemble de la population est

(1) Médecin, Entomologiste médical Chargé de recherches à l'ORSTOM. Antenne Entomologique de l'Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies, Cotonou BENIN (OCCGE).

(2) Médecin en Chef, Centre Médico-social de la Mission de Coopération d'Action Culturelle, Cotonou, BENIN.

(3) Entomologiste médical, Chef de l'Antenne Entomologique de l'Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies, Cotonou BENIN (OCCGE).

25 JUN 1990

N° : 30.159 ex 1

Cote : B M

JM P10

hétérogène. Plutôt que leur âge, variant de quelques mois à plus de soixante ans, nous avons considéré la durée totale de leurs séjours outre-mer, sans interruption notable en dehors d'une zone d'endémie palustre, et d'éventuels antécédents palustres connus.

Méthodes

Le diagnostic de paludisme a été retenu en présence d'un frottis positif, et/ou d'une élévation franche du titre sérologique. Le frottis effectué lors de la consultation, était coloré au Giemsa rapide (RAL 555®, Rhône-Poulenc) et lu immédiatement. Selon l'état du patient et l'évolution sous traitement, d'autres frottis étaient pratiqués dans les jours suivants. Le seuil de détection de la parasitémie microscopique se situe entre 75 et 100 hématies parasitées par μl . Les prélèvements pour la sérologie ont été faits à la pulpe du doigt sur tube capillaire hépariné. Le plasma est recueilli après centrifugation. Nous avons utilisé les lames *Falciparum* spot® (Bio-Mérieux) et le conjugué Fluoline H® (Bio-Mérieux). Nous avons considéré comme négatifs les titres inférieurs au 1/40°. En dehors de 17 sujets qui ne se sont pas prêtés à un second prélèvement, nous avons pu rechercher dans tous les cas suspects ou douteux, une élévation du titre. Nous avons considéré comme significative une différence d'au moins deux dilutions entre le prélèvement précoce et les prélèvements tardifs. Enfin, la plupart des personnes ayant présenté un titre élevé (en pratique supérieur ou égal à 1/360°) ont été de nouveau prélevées dans les mois qui suivirent pour vérifier la décroissance du titre. Les titres moyens correspondent à la moyenne géométrique de l'inverse des titres individuels.

III. RESULTATS.

Les consultants

Sur les 136 consultants présentant des troubles

cliniques évoquant le paludisme, nous avons confirmé cette étiologie chez 113. Le frottis a été positif dans 61 cas, en général avec une densité parasitaire faible, de l'ordre de 100 parasites par μl . Les résultats de l'immunofluorescence indirecte (IFI) nous ont permis de retenir le diagnostic de paludisme chez 52 sujets dont le, ou les frottis avaient été négatifs. Enfin, 23 patients ont vraisemblablement eu une affection distincte du paludisme : frottis et sérologies sont restés négatifs.

Les sujets en bonne santé apparente.

Les frottis de ces sujets ont tous été négatifs. Le titre des anticorps obtenus en immunofluorescence indirecte est dans l'ensemble très faible, en moyenne inférieur au seuil que nous avons retenu. Si l'on tient compte de la durée totale des séjours outre-mer, une élévation franche du titre moyen apparaît pour les sujets ayant plus de onze années consécutives de résidence outre-mer. Deux expatriés plus récemment arrivés montrent des titres limites ou franchement positifs (1/40° à 1/160°) sans signaler de troubles morbides récents. Il peut donc s'agir aussi bien d'une séquelle immunologique d'un paludisme ancien que de la manifestation d'une infection palustre récente méconnue.

Nous n'avons pas rencontré, chez les personnes n'ayant pas présenté d'accès palustre depuis moins de 6 mois, de porteur de titre élevé d'anticorps (supérieur au 1/360°). Ceci permet de retenir comme hypothèse que la baisse du titre, après la cure de l'accès palustre, est rapide. Comme corollaire, il est possible de considérer qu'un titre élevé est la manifestation d'une infection récente.

L'interprétation épidémiologique des résultats sérologiques.

Nous avons suivi l'évolution du titre moyen à la suite d'un épisode morbide. Chez 136 sujets, nous avons distingués ceux qui avait déjà présenté dans

TABLEAU

Distribution des résultats sérologiques obtenus chez 136 sujets atteints de paludisme clinique en fonction du frottis et chez 65 sujets asymptomatiques prélevés systématiquement.

Résultats sérologiques		IFI précoce ≥ 40	Nombre de prélèvements tardifs	IFI tardive ≥ 40
Paludisme clinique	Frottis positif 61 sujets	38 (62 %)	33	31 (94 %)
	Frottis négatif 75 sujets	40 (53 %)	38	31 (82 %)
Prélèvements systématiques	Frottis négatif 65 sujets	11 (17 %)	9	8

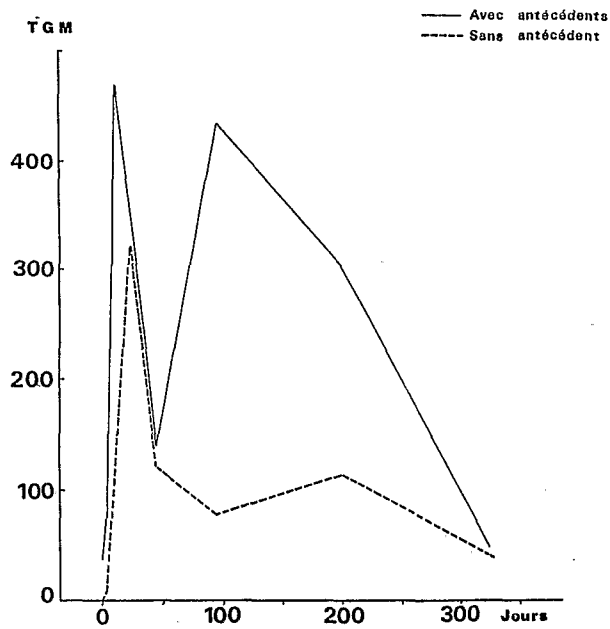


Fig. 1

Evolution du titre géométrique moyen des anticorps palustres (T.G.M.) chez les expatriés avec ou sans antécédents palustres à la suite d'un accès palustre confirmé.

le passé un épisode palustre vraisemblable ou confirmé, des sujets « neufs », récemment arrivés en région endémique. Cela a permis d'établir la courbe de la fig. 1.

Nous avons également suivi l'évolution du titre moyen en fonction de la durée du séjour en zone d'endémie. Parmi les 201 sujets de la population étudiée, 71 ont déjà présenté un accès palustre confirmé. La courbe du titre moyen d'anticorps de ces sujets, comparée à celle de l'ensemble de la population, permet d'apprécier l'effet de rappel immunologique en cas de nouvelle infection (f.2).

Enfin, nous avons comparé divers paramètres chez les sujets ayant suivi une chimioprophylaxie rigoureuse à la chloroquine ou à l'amodiaquine (170 personnes, durée moyenne de séjour outre-mer inférieure à 6 ans) et chez ceux admettant ne pas la suivre (26 personnes, durée moyenne de séjour supérieure à 9 ans). La fréquence de positivité du frottis est sensiblement la même (62,4 % chez les premiers contre 65,4 % chez ceux qui ne se soumettent pas à la chimioprophylaxie). La fréquence du paludisme est inférieure chez les personnes sous prophylaxie (65,3 % contre 76,9 % chez les autres). Le titre moyen d'anticorps en immunofluorescence indirecte est nettement inférieur chez les expatriés prenant une chimioprophylaxie (1/32^e) que chez ceux qui n'en prennent pas (1/133^e). Toutefois aucune des différences rencontrées n'est significative ($\geq 0,05$).

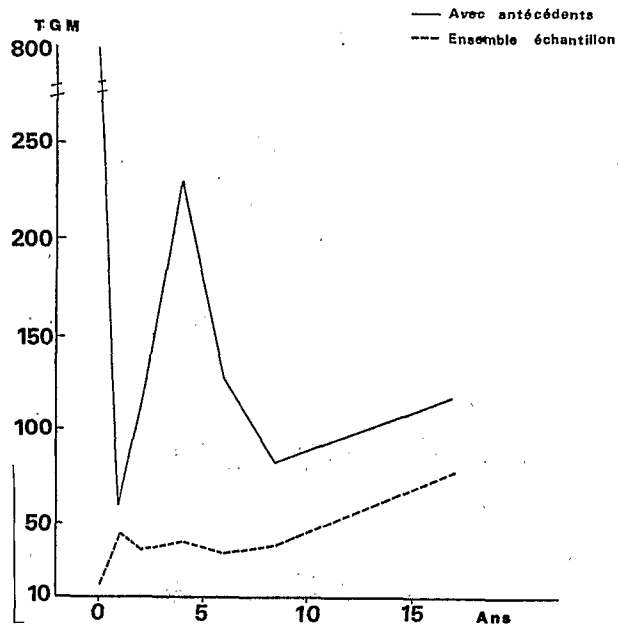


Fig. 2

Evolution du titre géométrique moyen des anticorps palustres (T.G.M.) chez les expatriés en fonction du temps de séjour en zone d'endémie.

IV. DISCUSSION.

— Le nombre des cas de paludisme traités chez les expatriés français au cours de la période qui nous occupe (août 1987 à janvier 1988) est très supérieur à l'incidence rencontrée habituellement (f. 4). Il est certain que la démarche diagnostique a permis la découverte d'un nombre plus grand de paludéens que les autres années. Mais cela seul n'explique pas un phénomène s'apparentant à une épidémie. Le nombre total de consultations au cours de cette saison des pluies mémorable (près du double de la pluviosité moyenne) a lui-même considérablement augmenté par rapport aux années précédentes.

— Au plan clinique, les formes atypiques décrites par CHARMOT et COULAUD (2) correspondent bien à ce que nous avons observé. La faiblesse de la parasitémie, chez la majorité des expatriés, s'oppose à la richesse des lames que nous avons observée chez les enfants béninois semi-immuns de la région de Cotonou (CHIPPAUX et Coll.) (4). Pourtant il s'agit a priori des mêmes souches, fréquemment résistantes à la chloroquine, comme en témoignent les diverses enquêtes de chimiosensibilité effectuées depuis 1986 à Cotonou (GUIGUMENDÉ et Coll.) (6); CHIPPAUX et Coll. (3). Il est donc possible que l'exposition restreinte des expatriés par rapport à celle des sujets béninois, associée à une prise

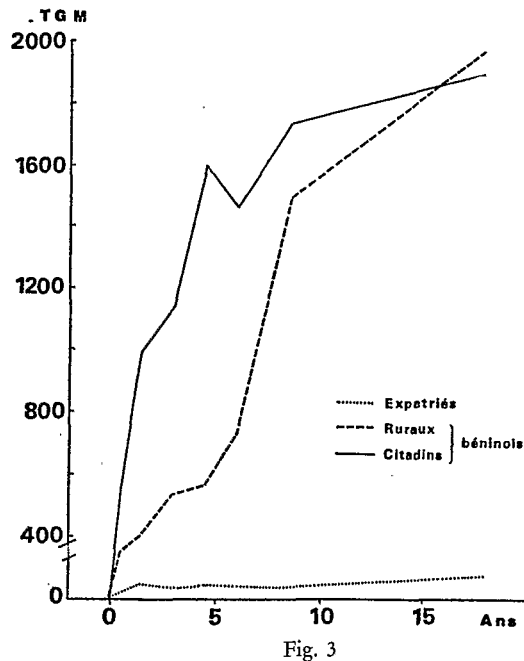


Fig. 3
Evolution du titre géométrique moyen des anticorps palustres (T.G.M.) chez les expatriés en fonction de la durée d'exposition chez les expatriés et chez les Béninois ruraux et citadins.

répétée, à titre prophylactique ou curatif, d'antimalariques sélectionnent les souches de *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistantes et conduisent à des tableaux cliniques et parasitologiques plus pervers. La sérologie prend donc une grande importance, moins pour le diagnostic en urgence que pour sa confirmation a posteriori. En attendant cette confirmation, l'attitude systématique sera le traitement antipalustre de présomption.

— Au plan épidémiologique, l'intérêt de la sérologie n'est plus à démontrer (DELMONT et QUILICI), (5). Cela est particulièrement vrai lorsque les densités parasitaires sont faibles, individuellement ou collectivement. Dans une situation de faible transmission, les parasitémies sont collectivement faibles puisque l'indice plasmodique est réduit. A Cotonou, chez les expatriés, les parasitémies sont individuellement faibles, malgré une circulation importante de *Plasmodium falciparum*: le taux d'inoculation au centre de la ville est supérieur à 1 piqûre infectante par homme et par semaine (AKOGBETO et Coll., à paraître). Même si l'on admet que, dans les quartiers résidentiels aisés, cette exposition est moindre, elle est certainement loin d'être négligeable. D'ailleurs l'incidence observée en 1987 s'accorde bien à cette hypothèse. Nous pouvons estimer le taux d'attaque, cette année là, à près de 20% au sein d'une population à prédominance urbaine et dans l'ensemble bien protégée. Le recours à l'immunofluorescence indirecte permet de retrouver un taux

d'attaque double par rapport aux résultats obtenus par les seuls frottis, ce qui est conforme à l'observation de SARROUY et Coll. (9).

L'acquisition des anticorps, après l'apparition des manifestations cliniques, est rapide dans le cas d'une primo-invasion (entre 15 jours et un mois), brutale chez les sujets ayant eu des antécédents palustres confirmés. Chez ces derniers, l'effet de rappel provoqué par l'infection palustre conduit à une élévation du titre des anticorps immédiate supérieure ou égale à $1/360^{\circ}$ dès la première détermination en immunofluorescence indirecte. Cette hausse du taux d'anticorps suit une infection récente qui peut être parfaitement bien tolérée. De même, l'observation d'une parasitémie franche sans traduction clinique, au cours de l'acquisition de la prémunition, est signalée (TOUZE et Coll.) (10).

La durée du séjour influe bien évidemment sur le titre moyen des anticorps de la population. Comparé à l'acquisition des anticorps en immunofluorescence indirecte chez les enfants béninois, à Cotonou et en milieu rural (CHIPPAUX, résultats non publiés), la progression du titre moyen est comparable sinon parallèle (fig. 3). La différence de titre entre les expatriés et les enfants béninois est à mettre sur le compte d'une différence notable d'exposition. On sait que les anticorps décelés en immunofluorescence indirecte ne sont pas protecteurs, mais qu'ils retracent l'histoire immunologique récente, et que, dans une certaine mesure, ils peuvent servir d'indicateurs

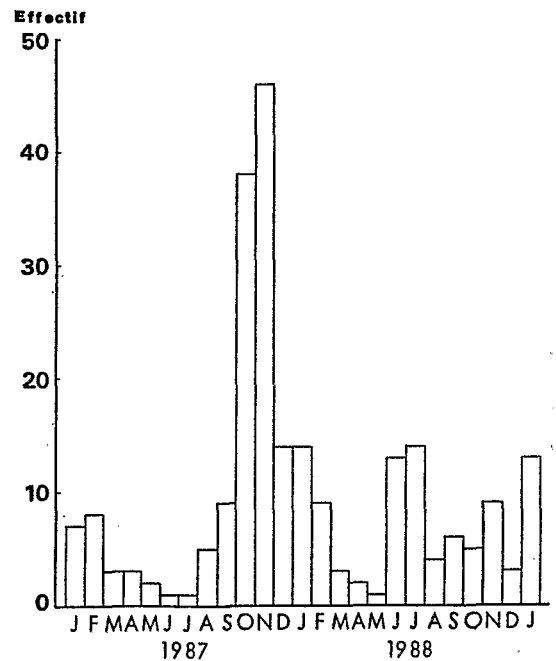


Fig. 4

Nombre de frottis positifs observés mensuellement de janvier 1987 à janvier 1989.

grossiers de l'acquisition de la prémunition (AMBROISE-THOMAS) (1). Celles-ci n'apparaît pas chez les sujets expatriés dont l'exposition est insuffisante et chez qui, peut-être, la chimioprophylaxie réduit encore les possibilités de s'immuniser. Ils se retrouvent, après 15 ans de présence dans une zone holoendémique, avec un titre moyen inférieur à ce qui serait observé dans une population prémunie.

V. CONCLUSION.

L'utilisation de l'immunofluorescence indirecte dans une population non-immune soumise à un risque important d'infection par *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistant a un intérêt diagnostique certain, même si elle ne remplace pas le frottis ou la goutte épaisse. En région d'endémie l'immunofluorescence indirecte n'est pas une technique de routine, et il n'est sans doute pas souhaitable qu'elle le devienne. Il n'en reste pas moins qu'il s'agit d'un élément de confort pour le praticien qui peut confirmer un diagnostic, ou l'éliminer a posteriori. L'étude que nous avons effectuée a permis de mettre en évidence une réelle épidémie de paludisme chloroquino-résistant au décours des fortes inondations de la saison des pluies de 1987 à Cotonou. Enfin, cela a confirmé, ce qui était soupçonné depuis longtemps, que les sujets expatriés n'ont que peu d'espoir de parvenir à un état de prémunition, même en zone holoendémique. Force est d'admettre que pour eux la prophylaxie reste l'unique chance d'éviter le paludisme. A cet égard, il ne nous paraît pas souhaitable, comme certains l'ont proposé un peu hâtivement, de remettre en cause la chimioprophylaxie par la chloroquine chez les sujets résidant en zone de chloroquino-résistance. L'association sul-

fadoxine-pyriméthanine (Fansidar[®]), la quinine ou la méfloquine, en tenant compte pour cette dernière d'une lenteur de réponse chez les sujets sous chloroquine (GEARY et Coll.) (7) prendrons le relais au moindre signe pathologique. En complément de l'arsenal chimique, il paraît opportun de rappeler l'existence de méthodes prophylactiques éprouvées, malgré une désaffection regrettable, et plus ou moins simples à mettre en œuvre : répulsifs, insecticides, moustiquaires, climatisation, etc...

Enfin, plus que jamais, il est nécessaire de rappeler l'impérieuse nécessité d'évoquer systématiquement le paludisme chez toute personne ayant effectué un séjour outre-mer au cours de l'année écoulée.

RESUME

A Cotonou où circulent de nombreuses souches de *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistantes, les auteurs ont systématiquement associé au frottis sanguin la sérologie palustre chez les expatriés consultant au Centre Médico-social de l'Ambassade de France. La sérologie palustre a permis de confirmer le diagnostic de paludisme dans les cas de parasitémie fruste où les frottis étaient négatifs.

Par ailleurs, les auteurs ont constaté que l'acquisition des anticorps fluorescents chez les expatriés, quoique d'évolution parallèle à celle des enfants béninois, conduit à des titres moyens notablement inférieurs. Cette observation pourrait signifier une absence de prémunition chez les expatriés, même après plus de douze années de résidence en région holoendémique. Le choix d'une prophylaxie du paludisme doit en tenir compte.

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié d'un crédit exceptionnel de la Mission de Coopération et d'Action Culturelle de l'Ambassade de France au Bénin. Nous tenons à remercier M. M. MONFORT, Chef de Mission, pour son aide et ses encouragements.

Nos remerciements vont également à Mlle. Noëlle ADJALIAN pour sa collaboration technique.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — AMBROISE-THOMAS P. La réaction d'immunofluorescence dans l'étude séro-immunologique du paludisme. *Bull. O.M.S.*, 1974, 50, 3-4, 267-276.
- 2 — CHARMOT G. et COULAUD J.P. Les formes atypiques du paludisme à *Plasmodium falciparum* chimio-résistant observées en France. *Méd. Mal. Infect.*, 1988, 18, 2, 52-56.
- 3 — CHIPPAUX J.P., MASSOUBODJI A., OLLIARO P., GAY F., GALIGARIS S. and DANIS M. Sensitivity in vitro of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and mefloquine in two regions of Benin. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, 83, 5, 584-585.
- 4 — CHIPPAUX J.P., AKOGBETO M., MASSOUBODJI A. et ADJAGBA J. Mesure de la parasitémie palustre et évaluation du seuil pathogène en région de forte transmission. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol.*, 1989, 27, sous presse.
- 5 — DELMONT J., QUILICI M. Le diagnostic séro-immunologique du paludisme. Méthodes et applications. *Méd. trop.*, 1982, 42, 4, 397-403.
- 6 — GUIGUEMDE T.R., OUEDRAOGO J.B. et GBARY A.R. Etude de la chimiosensibilité du *Plasmodium falciparum* à Cotonou. *Doc. Tech. OCCGE*, 1987 n° 9.039-87, 16 pp
- 7 — GEARY T.G., BONNANI L.C., and JENSSEN J.B. Effects of combinations of quinoleine-containing antimalarials on *Plasmodium falciparum* in culture. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1986, 80, 3, 285-291.
- 8 — LE BRAS J., HATIN I., BOUREE P., COCO-CIANCI O., GARIN J.P., REY M., CHARMOT G. and ROUE R. Chloroquine-résistant *Plasmodium falciparum* malaria in Benin. *The Lancet*, 1986, ii, 1043-1044.
- 9 — SARROUY J., BERNARD J., DUFOUR P., GIMENEZ-ESPINOS M., QUINTEL C., SALIGNE A. Paludisme à *Plasmodium falciparum* pendant et après un séjour de 4 mois en zone de chloroquino-résistance (Gabon). Apport de la sérologie palustre et du dépistage systématique de la parasitémie au retour. Propositions pour la prophylaxie. *Méd. et Mal. Infect.*, 1988, 18, 3, 177-180.
- 10 — TOUZE J.E., BAUDON D., MARTET G., DE PINA J.J., IMBERT P., COURTOIS D., DOURY J.C. et AUBRY P. Difficultés diagnostiques et aspects cliniques actuels du paludisme à *Plasmodium falciparum* au retour d'une zone de chimiorésistance. *Presse Médicale*, 1988, 17, 31, 1573-1575.