

MESURE DE LA PARASITÉMIE PALUSTRE ET ÉVALUATION DU SEUIL PATHOGÈNE EN RÉGION DE FORTE TRANSMISSION PERMANENTE

JEAN-PHILIPPE CHIPPAUX (1), MARTIN AKOGBETO (2),
ACHILLE MASSOUGBODJI (3), JEROME ADJAGBA (4)

- (1) Médecin, entomologiste médical ORSTOM, Antenne entomologique O.C.C.G.E., B.P. 06-2604, Cotonou, Bénin.
- (2) Entomologiste médical, Chef de l'*antenne entomologique O.C.C.G.E.*
- (3) Médecin, Professeur Agrégé de Parasitologie à la Faculté des Sciences de la Santé, B.P. 188, Cotonou, Bénin (Pr. B.C. SADELER).
- (4) Technicien supérieur, même adresse.

RÉSUMÉ

Une méthode d'évaluation de la parasitémie simple, rapide et peu coûteuse est proposée pour les enquêtes épidémiologiques de prévalence ou de morbidité en région d'endémie palustre à transmission permanente.

La densité parasitaire est mesurée sur frottis à partir du nombre d'hématies obtenu par micro-hématocrite. La formule permettant d'établir la parasitémie est explicitée et justifiée par une étude statistique montrant que la lecture de 75 à 100 champs microscopiques au grossissement $\times 100$ est suffisante au sein d'une population exposée.

Le seuil pathogène de la parasitémie palustre pour *Plasmodium falciparum* est déduit de la comparaison des parasitémies individuelles par groupes d'âge chez 1 163 sujets en bonne santé et 534 consultants. Chez les enfants, la limite de parasitémie pathogène se situe entre 3 000 et 6 000 trophozoïtes par mm^3 de sang. Chez l'adulte, ce seuil semble être inférieur à 1 000 trophozoïtes par mm^3 de sang. Dans un contexte morbide, de telles parasitémies doivent faire retenir le diagnostic de paludisme.

Mots-clés : Paludisme - Seuil pathogène - Parasitémie - Cotonou - Afrique de l'Ouest.

SUMMARY

Determination of malarial parasitaemia and evaluation of febrile threshold value in high continuous transmission areas

A simple, rapid and cheap method for evaluation of malarial parasitaemia is proposed for epidemiological survey and diagnosis in areas where malarial

transmission is high and continuous. Epidemiological surveys were carried out in Cotonou, a coastal lagoon urban area.

Malarial parasite density was obtained by thin smear. For each individual, number of red cells was given by a micro-hamatocrit measurement.

Parasitaemia per microlitre of blood is equal to $(0,085 X + 0,913)H \times 10^6/280 N$, where H is the number of infected red cells and X the value of hamatocrit and N the number of examined fields. Number of examined fields can be, with sufficient precision, 75 or 100 oil immersion fields for each thin smear in high endemic areas or in exposed populations.

The febrile threshold value of parasitaemia observed for *Plasmodium falciparum* was obtained after determination of individual malarial parasite density, for each age group, in a healthy population of 1 163 individuals. These results were compared to those of 534 outpatients of a welfare center.

The febrile threshold value was about 3 000 to 6 000 trophozoites per μl of blood for children under 12. For adults, the febrile threshold value was lesser than 1 000 trophozoites per μl of blood. Such values are highly significant for the diagnosis of malaria attack.

Key words : Malaria - Febrile threshold - Parasitaemia - Cotonou - West Africa.

1. Introduction

Au cours des travaux sur l'épidémiologie ou la morbidité palustre, un des principaux problèmes méthodologiques concerne le diagnostic. En général, trois groupes de critères sont retenus :

- La clinique constitue la première base du jugement, laissée à l'appréciation du médecin traitant, avec pour principal argument la température centrale, dont le seuil varie selon les études ;
- Le critère parasitologique est parfois quantitatif. La parasitémie, évaluée sur frottis et goutte épaisse, permet de considérer des limites discriminantes. L'appréciation est plus souvent qualitative, ce qui peut être considéré comme insuffisant en région d'endémie palustre (Benasseni *et al.*, 1987 ; Baudon *et al.*, 1988) ;
- enfin, l'évolution sous traitement constitue un argument supplémentaire, parfois décisif.

Cette diversité s'explique par la difficulté du diagnostic lié au manque de moyens d'investigation, aux nombreuses causes d'erreur, au caractère subjectif de certains critères, aux problèmes logistiques, etc. Même les éléments apparemment objectifs, comme la température, peuvent être discutés : elle peut, en effet, être mesurée au cours d'une période de défervescence.

Le calcul de la densité parasitaire a fait l'objet de plusieurs publications. Trape (1985) compte le nombre de trophozoïtes par rapport aux leucocytes sur les gouttes épaisses en retenant une moyenne de 8 000 leucocytes par mm^3 . Baudon *et al.* (1984) calculent le nombre d'hématies parasitées sur frottis en admettant une moyenne de 4 millions de globules rouges par mm^3 .

En région de forte endémie palustre à transmission permanente, ce qui est le cas du sud Bénin côtier et lacustre, l'association fièvre et présence de *Plasmodium* sur le frottis ne suffit pas à affirmer le diagnostic d'accès palustre (Baudon *et al.*, 1988). Il est essentiel de tenir compte de la densité parasitaire.

Nous avons recherché, à partir d'une population en bonne santé apparente et à partir de sujets consultants dans un dispensaire périphérique, enfants et adultes, sur une période de deux ans, une technique simple et reproductible de quantification de la parasitémie. Cela nous a permis d'évaluer le seuil de densité au delà duquel la fièvre pouvait être considérée comme palustre.

2. Matériel et méthode

2.1. Choix des sujets

Des enquêtes épidémiologiques longitudinales ont été menées dans deux quartiers de Cotonou. Celles qui ont été faites à Agblangandan ont concerné 177 enfants de 6 mois à 12 ans prélevés de 1 à 9 fois chacun entre octobre 1985 et juillet 1987, soit 668 prélèvements. A Ladji, 172 enfants ont participé à une enquête de même nature, avec deux passages, en saison sèche (mars 1987) et en saison des pluies (août 1987), qui ont permis 285 prélèvements. Seuls les prélèvements effectués chez des enfants en bonne santé ont été retenus. Des enquêtes transversales ont été conduites dans deux villages de la Province du Zou (zone de savane libérienne-nigérienne boisée), Lissa et Sozoumé, en saison sèche et en début de saison des pluies chez les enfants comme chez les adultes. 210 prélèvements ont été effectués.

L'enquête de morbidité a été menée dans le dispensaire d'Agblangandan (quartier lagunaire à la périphérie de Cotonou) entre mai 1986 et décembre 1987. Deux ou trois consultations par semaine, à jour variable, ont permis d'examiner 534 sujets de tous âges.

2.2. Mesure de la parasitémie

Tous les prélèvements ont été faits à la pulpe du doigt, avec un vaccino-style. Les frottis sont fixés et colorés au RAL^R (Rhône Poulenc). Un capillaire hépariné pour microhématocrite est recueilli.

Evaluation du nombre d'hématies

Après centrifugation du capillaire, l'hématocrite nous a permis de déterminer approximativement le nombre d'hématies à l'aide d'un abaque. Ce dernier a été établi suivant des résultats de sujets chez qui nous avons corrélié hématocrite et numération des hématies. Nous avons comparé ces caractères chez les sujets bien portants et chez les malades selon la technique de numération des hématies utilisée (manuelle ou compteur automatique). La droite de régression linéaire obtenue constitue l'abaque.

Nous avons également vérifié le nombre moyen de globules rouges présents sur chaque champ microscopique en fonction de l'hématocrite. Nous avons compté le nombre d'hématies visibles sur 10 champs (oculaires x 10 grand champ, objectif x 100 à immersion) de 50 lames différentes prises au hasard dans les différents groupes de sujets.

Calcul du nombre de champ à lire

Nous avons considéré une série de 139 lames et comparé les résultats après lecture de 10, 25, 50, 75, 100, 150 et 200 champs de frottis. Nous avons établi pour chaque groupe l'indice plasmodique, la parasitémie individuelle, et la moyenne des parasitémies, considérant que les chiffres obtenus après lecture de 200 champs constituaient la référence. Les tests statistiques appliqués (comparaisons de fréquences, de moyennes et corrélation) ont tous comme limite de significativité 5 %.

2.3. Evaluation du seuil pathogène

Le critère utilisé a été purement déductif. Nous avons établi, dans la population saine, le nombre de sujets appartenant à chaque classe de parasitémie (croissance géométrique de raison 2). Nous avons admis que cette distribution de la parasitémie était habituelle dans une population en bonne santé. Nous avons établi, de la même façon, la distribution de la parasitémie chez les consultants. Chez ces derniers, nous avons admis que les malades qui consultaient pouvaient avoir une parasitémie dont la distribution était similaire à celle observée dans la population saine. Nous avons calculé les effectifs théoriques de consultants pour chaque classe de parasitémies, correspondant à la distribution de la parasitémie chez les sujets en bonne santé. Pour les faibles parasitémies, le nombre de consultants est toujours inférieur aux effectifs théoriques calculés à partir des distributions observées chez les sujets sains. En revanche, dans les classes de parasitémies élevées, il apparaît un nombre de consultants plus important que l'effectif théorique ne le prévoit. La présomption d'accès palustre devient forte chez ces sujets exédentaires, puisqu'ils sont à la fois malades et porteurs d'une parasitémie « anormale ».

3. Résultats

Au total 1 076 sujets ont fait l'objet de 1 697 prélèvements. Le tableau 1 récapitule les effectifs de chaque groupe d'âge et le nombre de prélèvements effectués.

3.1. Mesure de la parasitémie

Evaluation du nombre d'hématies

Quels que soient l'état de santé et la technique utilisée pour la numération des globules rouges, la corrélation avec l'hématocrite est forte : $r = 0,83$ pour $ddl = 103$ lorsque les mesures sont automatiques ; $r = 0,74$ pour $ddl = 129$ lorsque les mesures sont manuelles. L'équation de la droite obtenue pour chaque série de mesures affecte de discrètes variations autour de la valeur $Y = 0,08 X + 1$ où Y est le nombre d'hématies exprimé en millions et X l'hématocrite exprimé en pourcentage. Nous avons retenu pour notre abaque l'équation de la droite de régression linéaire prenant en compte la totalité des mesures, $Y = 0,085 X + 0,913$.

Nous avons comparé le nombre moyen d'hématies par champ microscopique en fonction de différentes valeurs de l'hématocrite et constaté leur indépendance. L'analyse de la variance des moyennes du nombre d'hématies par champ nous a donné $F = 1,12$. Nous avons obtenu une moyenne de 281,6 hématies par champ ($\theta = 19$ et $n = 500$) et nous avons utilisé pour nos calculs la valeur moyenne de 280.

Choix du nombre de champs

L'indice plasmodique présente une progression linéaire en relation avec le nombre de champs lus. Jusqu'à 75 champs, il reste significativement différent de celui obtenu pour la lecture de 200 champs. La moyenne des parasitémies est, en revanche, remarquablement stable. La différence de moyenne entre la lecture de 200 champs et l'observation d'un nombre quelconque de champs n'est jamais significative. Le coefficient de corrélation entre les parasitémies observées pour chaque lame devient très hautement significatif à partir des paires 75/200 champs ($r = 0,94$ pour $ddl = 137$). Il est d'ailleurs voisin pour les paires 100/200 et 150/200. Les résultats statistiques sont consignés dans le tableau 2.

Calcul de la parasitémie

La parasitémie individuelle (P) est fournie par l'équation

$$P = \frac{H (0,85 X + 0,913) \times 10^6}{280 \times N}$$

où H représente le nombre d'hématies parasitées, X l'hématocrite et N le nombre de champs lus. La parasitémie est exprimée en nombre de globules rouges parasités par mm^3 (GRP/ mm^3).

3.2. Evaluation du seuil

La figure 1 montre la variation de la parasitémie chez les sujets sains en fonction de l'âge.

Les adultes présentent des charges plasmodiales très faibles, inférieures à 500 trophozoïtes/ mm^3 chez plus de 95 % d'entre eux. Les enfants présentent des charges plus élevées, supérieures à 1 000 trophozoïtes/ mm^3 dans 30 % des cas environ. Quelques uns ont des parasitémies dépassant 10 000 parasites/ mm^3 , seuil généralement considéré comme suffisant pour déclencher un accès palustre. Ils constituent entre 1,5 % et 2 % de l'ensemble des enfants sains prélevés.

La figure 2 représente les fréquences de parasitémies « anormales » en fonction de l'âge chez les consultants. Ces parasitémies s'observent avec une plus grande fréquence que celles observées dans une population en bonne santé apparente. Les courbes ont été obtenues en déduisant des fréquences de parasitémies observées chez les malades, les fréquences de parasitémies observées chez les sujets bien portants. Il s'agit des sujets décrits ci-dessus comme « excédentaires », et chez qui l'on suspecte un accès palustre. Il apparaît que le seuil critique est voisin de 3 000 parasites par mm^3 chez l'enfant et d'environ 1 000 parasites par mm^3 chez l'adulte prémuni.

4. Discussion

Nous n'aborderons pas ici les critères cliniques ou évolutifs qui seront envisagés ailleurs, à propos d'une étude de morbidité menée en dispensaire périphérique et en milieu hospitalier. Nous avons considéré que le fait de venir à une consultation médicale traduisait une demande nous permettant de classer le sujet comme malade. L'argument parasitologique pose deux problèmes : celui de la numération des parasites et celui de l'interprétation clinique ou biologique que l'on peut en donner.

Le compte des parasites sur une goutte épaisse est d'une très grande sensibilité, permettant, selon Trape (1985), la détection de 2 parasites par mm^3 de sang après la lecture de 200 champs. En utilisant un frottis, un tel seuil exigerait la lecture de 7 500 champs environ. L'intérêt de détecter un tel niveau de parasitémie n'est pas primordial dans la mesure où sa signification n'est pas établie. En revanche, la rapidité et la simplicité de la méthode nous ont fait préférer le frottis.

La mesure de la parasitémie est plus rigoureuse lorsqu'elle se fonde sur le calcul du nombre d'hématies plutôt que sur un nombre moyen de leucocytes. Outre que ce dernier est très variable (d'un facteur de 1 à 36) dans une population soumise à de nombreuses infections, il est probable que la distribution des globules blancs sur une goutte épaisse n'est pas aléatoire. En pratique, le nombre d'hématies est plus simple à déterminer en campagne de masse, grâce à la mesure de l'hématocrite sur tube capillaire dont la précision est suffisante (variations de 15 %).

Le choix du nombre de champs à lire est fonction de la sensibilité recherchée. L'indice plasmodique dépend du nombre de champs lus, et dans ce cas, il est probable qu'aucune solution ne puisse être considérée comme satisfaisante. Il est certain que la lecture d'un nombre supérieur de champs aurait conduit à la découverte de nouveaux porteurs de *Plasmodium*. En revanche, la densité parasitaire est un critère peu affecté par le nombre de champs observés, sous réserve que ce dernier soit suffisant. Il ressort de la comparaison entre les différents résultats que la lecture de 75 champs est un compromis acceptable. En terme de probabilité, une parasitémie significative a toutes les chances d'être détectée. En terme de rendement, l'intérêt de lire plus de 100 champs est mineur au regard des inconvénients.

La distribution des parasitémies observée chez les sujets en bonne santé (fig. 1) permet de distinguer nettement deux groupes. Les enfants de moins de 12 ans peuvent présenter des parasitémies élevées sans signe morbide *a priori*. Les adultes semblent contrôler plus efficacement leur parasitémie.

L'observation de fortes charges parasitaires chez les enfants est souvent signalée (Baudon *et al.*, 1984 ; Picq, 1982 ; Trape, 1985 ; Trape *et al.*, 1985). La signification réelle est controversée. Il est possible que, au sein de cette population acquérant sa prémunition, l'équilibre hôte/parasite soit précaire. Il serait nécessaire, chez ces enfants, de procéder à un examen clinique et de vérifier la parasitémie dans les heures qui suivent le dépistage d'une charge parasitaire élevée.

Le seuil pathogène palustre élevé chez l'enfant (fig. 2) s'inscrit dans la logique de ce qui vient d'être dit. Quel que soit l'âge, avant 12 ans, il apparaît une certaine tolérance pour des parasitémies relativement fortes. Chez l'adulte, le seuil est sensiblement plus bas. La notion de seuil pathogène doit être considérée avec prudence. Il est vraisemblable qu'elle varie sensiblement selon les faciès épidémiologiques.

La méthode que nous avons utilisée n'associe pas un critère clinique particulier à la densité parasitaire. Notre approche est plus empirique : elle met en évidence une fréquence anormale de parasitémie chez des sujets présentant un trouble plus ou moins bien défini. Le terme de seuil pathogène est trop précis pour caractériser ce seuil critique qui pourrait se définir comme une limite de

présomption d'un accès palustre. Les seuils pyrogènes établis au Congo par Richard *et al.* (1988) sont identiques chez l'adulte et l'adolescent, mais sensiblement plus élevés chez le jeune enfant. Le critère clinique précis (la température) retenu par ces auteurs explique sans doute cette différence, mais cela suppose que la température est un signe constant et permanent de l'accès palustre à tous ses stades.

BIBLIOGRAPHIE

- BENASSENI R., GAZIN P., CARNEVALE P. et BAUBON D., 1987 – Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). 3. Etude de la morbidité palustre. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et parasitol.*, **25**, 3-4 : 165-170.
- BAUDON D., GALAUP B., OUEDRAOGO L. et GAZIN P., 1988 – Une étude de la morbidité palustre en milieu hospitalier au Burkina Faso (Afrique de l'ouest). *Méd. trop.*, **48**, 1 : 9-13.
- BAUDON D., GAZIN P., REA D., BOUDIN C., MOLEZ J.F., SANOU J.M., ROUX J., CARNEVALE P. et OUEDRAOGO L., 1984 – Epidémiologie clinique : morbidité palustre. *Etudes médicales*, **3** : 135-144.
- PICQ J.J., 1982 – Epidémiologie du paludisme, première endémie mondiale. Quelques notes. *Méd. trop.*, **42**, 4 : 365-381.
- RICHARD A., LALLEMANT M., TRAPE J.F., CARNEVALE P. et MOUCHET J., 1988 – Le paludisme dans la région forestière du Mayombe, République populaire du Congo. II. Observations parasitologiques. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **68**, 4 : 305-316.
- TRAPE J.F., 1985 – Rapid evaluation of malarial parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **79**, 2 : 181-184.
- TRAPE J.F., FEELMAN P. et MORAULT-FEELMAN B., 1985 – Criteria for diagnosing clinical malariae among a semi-immune population exposed to intense and perennial transmission. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **79**, 4 : 435-442.

Tableau 1

Distribution des effectifs selon l'âge.

Le nombre total de frottis effectués est mentionné entre parenthèses.

Age-related repartition of sample people.

Total number of examined thin smears is mentioned in brakets.

Age	Nombre de sujets sains <i>Number of healthy persons</i>	Nombre de sujets consultants <i>Number of outpatients</i>	Total
6 mois - 2 ans	129 (291)	147 (154)	276 (445)
3ans - 4 ans	100 (267)	63 (65)	163 (332)
5 ans - 12 ans	186 (461)	202 (210)	388 (671)
Adultes	144 (144)	105 (105)	249 (249)
Total	559 (1 163)	517 (534)	1 076 (1 697)

Tableau 2

Comparaison statistique des résultats obtenus en fonction du nombre de champs microscopiques observés par rapport à la lecture de 200 champs.

Statistical results obtained after examination of various number of thin smear fields compared with 200 thin smear observed fields.

Nombre de champs <i>Number of examined fields</i>	Indice plasmodique <i>Percentage prevalence</i>	Niveau de signification <i>Statistical significant level</i>	Parasitémie moyenne <i>Parasitaemia average</i>	Niveau de signification <i>Statistical signifiant level</i>	Corrélation <i>Correlation</i>
200	55,39	—	150	—	—
10	11,39	S (0,0001 %)	204	N S (5 %)	0,447
25	18,70	S (0,0001 %)	151	N S (5 %)	0,600
50	34,53	S (0,1 %)	199	N S (5 %)	0,821
75	39,56	S (1 %)	196	N S (5 %)	0,938
100	44,00	N S (5 %)	181	N S (5 %)	0,956
150	50,35	N S (5 %)	160	N S (5 %)	0,959

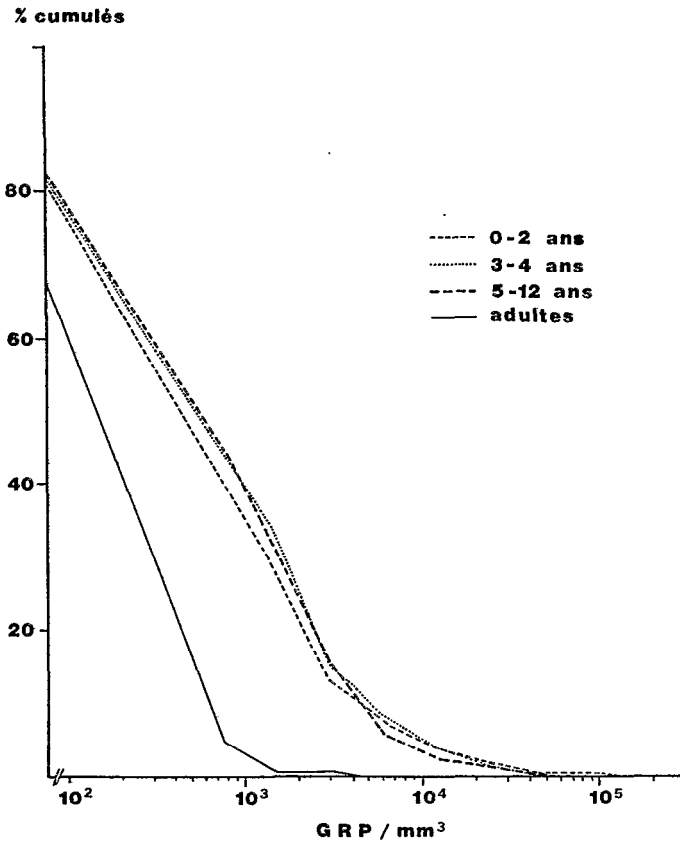


Figure 1

Fréquences cumulées des parasitémies observées chez les sujets sains en fonction de l'âge.
Age-related cumulative frequency of Plasmodium falciparum density among people.

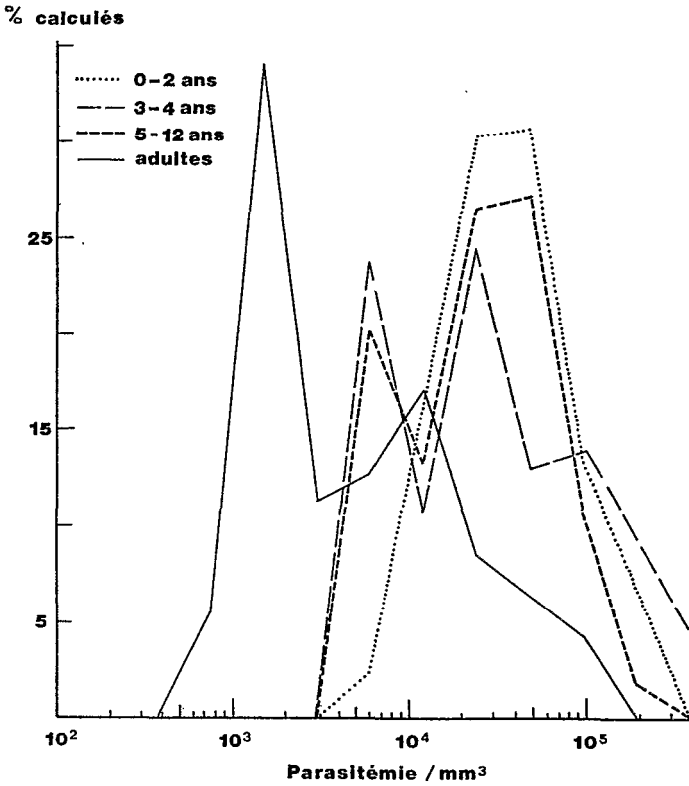


Figure 2

Fréquences des parasitémies observées chez les sujets malades après déduction des fréquences de parasitémies observées chez les sujets en bonne santé.
Frequency of parasitaemia observed among healthy people.