

NOTE SUR LE PASSAGE TRANSPLACENTAIRE
DE *PLASMODIUM FALCIPARUM*
CHEZ DES PARTURIENTES NON FÉBRILES
EN RÉGION HOLOENDÉMIQUE

Par J.-P. CHIPPAUX (1), A. MASSOUBODJI (2), S. EKOUE (3), T. LANMASSO (4),
M. AKOGBETO (4) & B. AGUESSY-AHYI (5) (6)

RÉSUMÉ

Chez 53 couples mère-enfant ne présentant aucun signe clinique évocateur d'accès palustre, il a été procédé à une mesure de la parasitémie dans les minutes suivant l'accouchement, une apposition sur lame du placenta, un dosage des anticorps antiplasmodiaux en immunofluorescence et une électrophorèse de l'hémoglobine. 51 % des mères avaient une parasitémie franche associée à une densité élevée de schizontes à la surface des villosités placentaires. Les densités parasitaires rencontrées chez les enfants sont négligeables et il n'apparaît aucune corrélation entre l'importance de la parasitémie chez les mères ou l'intensité de la schizogonie placentaire et les charges parasitaires rencontrées chez les nouveau-nés. Nous avons observé une fréquence accrue, bien que non significative, des accès palustres chez les femmes porteuses du trait drépanocytaire par rapport aux mères dont l'hémoglobine est normale. Chez ces femmes porteuses du trait drépanocytaire, la schizogonie s'effectue au niveau du placenta comme chez les femmes dépourvues du trait drépanocytaire.

Mots-clés : DRÉPANOCYTOSE, GROSSESSE, PALUDISME CONGÉNITAL, PARASITÉMIE, PLACENTA, *Plasmodium falciparum*, BÉNIN.

SUMMARY

Note on the flow of *Plasmodium falciparum* through placenta in non febrile parturient women in holoendemic region.

Plasmodium falciparum parasitaemia measure, placenta print on microscope slide, immunofluorescence titration of *Plasmodium* antibodies and electrophoresis of haemoglobin were performed in 53 mothers and their child who did not shown any clinical signs of malaria. 51 % from the mothers presented a patent parasitaemia associated with a high density

(1) Médecin, entomologiste médical ORSTOM, Centre OCCGE, BP 06-2604, Cotonou, République du Bénin. Adresse actuelle : Centre Pasteur du Cameroun, BP 1274, Yaoundé, Cameroun.

(2) Médecin, professeur-assistant de Parasitologie, Faculté des Sciences de la santé, Cotonou, République du Bénin.

(3) Technicien supérieur, Centre OCCGE, Cotonou, République du Bénin.

(4) Entomologiste médical, Directeur du Centre OCCGE de Cotonou, République du Bénin.

(5) Professeur agrégée de gynécologie-obstétrique, Faculté des Sciences de la santé, Cotonou, République du Bénin.

(6) Manuscrit n° 967. Congrès de Lomé, 5-8 novembre 1990.

ORSTOM Fonds Documentaire

N° 36.088 ex 1

Cote : B M M IX

09 NOV. 1992

of schizontes on uterine villi surface. Parasite density in children's blood was low and there was no correlation between mother's parasitaemia or placental schizogonia and newborn children's parasitaemia. We observed a higher prevalence of malaria attack, although the difference was not significant, in sickle cell women than in women whose haemoglobin was normal. In sickle cell women schizogonia occurred in placenta as in women whose haemoglobin was normal.

Key-words: PREGNANCY, SICKLE CELL, CONGENITAL MALARIA, PARASITAEMIA, PLACENTA, *Plasmodium falciparum*, BENIN.

INTRODUCTION

Il est admis que le paludisme congénital est exceptionnel en région holoendémique. Pourtant, l'infection palustre chez la mère est en général fréquente, en raison d'une baisse de l'immunité, sans toujours se traduire cliniquement. Le rôle filtrant du placenta semble exercer une protection efficace du fœtus pendant toute la durée de la grossesse. Les interactions sont d'ordre mécanique, par blocage des parasites au niveau des lacs villositaires et immunologiques, soit passif, par circulation d'anticorps maternels chez le fœtus, soit peut-être même actif, par immunisation du fœtus contre des antigènes plasmodiaux provenant de la mère.

Nous avons cherché à contrôler le rôle protecteur du placenta, dans des conditions « normales », c'est-à-dire en l'absence d'accès palustre clinique patent, et en fonction de divers paramètres, notamment l'importance de la parasitémie maternelle, et d'éventuels facteurs limitant classiquement l'intensité de l'infection, comme l'existence du trait drépanocytaire.

Cette étude a donc été menée chez des femmes sous chimioprophylaxie systématique et n'ayant présenté aucun signe clinique infectieux dans les jours précédant l'accouchement ni pendant les jours suivant ce dernier.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Cinquante-trois couples mère/nouveau-né ont été tirés au sort dans une maternité de Cotonou, parmi l'ensemble de ceux qui ne présentaient aucun trouble clinique, en période de forte transmission palustre c'est-à-dire en fin de grande saison des pluies (juillet-août). Toutes les mères ont eu un prélèvement à la pulpe du doigt avec un vaccinostyle stérile le jour de leur accouchement. Pour chacune, il a été pratiqué un frottis, une goutte épaisse et prélevé du sang, dans un microcapillaire hépariné. Les lames sont fixées et colorées au RAL 555® (Rhône-Poulenc). Le capillaire hépariné est centrifugé à 10 000 tours/minute pendant 5 minutes pour permettre la lecture de l'hématocrite. Le culot globulaire est recueilli pour l'électrophorèse de l'hémoglobine et le plasma est utilisé pour le titrage des anticorps antipalustres. La densité parasitaire est calculée selon la formule :

$$H(0,085 X + 0,913)10^6$$

280 N

où H est le nombre d'hématies parasitées, X est la valeur de l'hématocrite et N le nombre de champs examinés à l'objectif $\times 100$ (CHIPPAUX *et al.*, 1991). La limite de sensibilité est de l'ordre de 100 trophozoïtes par millimètre cube. Les gouttes épaisses ont été lues à l'objectif sec $\times 40$, sur 50 champs, pour le dénombrement des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*, ce qui correspond à un seuil de sensibilité d'environ 2 à 3 gamétocytes par millimètre cube de sang. Nous avons utilisé la moyenne géométrique des densités parasitaires.

L'électrophorèse de l'hémoglobine a été effectuée sur acétate de cellulose (Cello-gel®, Sébia) à pH = 9, force ionique = 0,025 (Tampon tris-glycine, Sébia), sous une différence de potentiel de 200 V, pendant 20 minutes. Nous avons effectué le titrage des anticorps selon la technique classique d'immunofluorescence indirecte avec des lames *Falciparum* Spot® et le conjugué Fluoline H® (BioMérieux). Le seuil de spécificité retenu est la dilution au 1/40. Les titres moyens correspondent à la moyenne géométrique de l'inverse des taux de dilution individuels.

Après la délivrance, nous effectuons une apposition des villosités placentaires sur deux lames distinctes. Celles-ci sont séchées à l'air, fixées et colorées, comme un frottis, au RAL 555®. La lecture est pratiquée avec un objectif à immersion ($\times 100$) sur 50 champs pour chaque lame. Les schizontes et les rosaces mûres sont dénombrés séparément. Les résultats, exprimés pour 50 champs, correspondent à la moyenne des deux lames. Enfin, chez l'enfant, il est pratiqué un prélèvement de sang au niveau du pied. Frottis et goutte épaisse sont confectionnés, colorés et lus selon la même technique. Le titre des anticorps palustres est mesuré en même temps que celui de la mère.

Les mères étaient toutes sous chimioprophylaxie à la chloroquine (10 mg.kg⁻¹/semaine) depuis la première visite prénatale (en principe au 3^e mois) mais nous n'avons pas contrôlé la chloroquinurie. Aucune mère, ni aucun enfant n'a présenté de fièvre au cours de l'hospitalisation à la maternité. En l'absence de signe clinique évocateur d'accès palustre, nous avons toutefois défini un « accès palustre parasitologique » en présence d'une parasitémie supérieure à 1 000 globules rouges parasités par millimètre cube (CHIPPAUX *et al.*, 1991).

RÉSULTATS

53 mères, 53 placentas et 55 enfants, en raison de la présence de deux paires de jumeaux (n^{os} 13 et 32), ont été inclus dans cette étude, soit la totalité des mères tirées au sort (tableau I). 27 mères (51 %) présentaient une densité parasitaire supérieure à notre seuil de détection. Cinq d'entre elles ont même une charge élevée, largement supérieure au seuil pathogène chez l'adulte tel que nous l'avions défini auparavant à Cotonou (environ 1 000 trophozoïtes par millimètre cube : CHIPPAUX *et al.*, 1991) et 9 autres une parasitémie compatible avec celle rencontrée lors d'accès palustre simple chez l'adulte. Chez les nouveau-nés, en revanche, les charges parasitaires sont très faibles. Nous avons observé trois enfants positifs seulement qui, tous, hébergent moins de 300 trophozoïtes par millimètre cube de sang. Le titre moyen des anticorps palustres est élevé par rapport à la population béninoise en général (CHIPPAUX *et al.*, 1989), tant chez les mères (= 1/4 103) que

TABLEAU I

Densités parasitaires sanguines (= Trophoz.) et placentaires (= Sch., Ros.)
chez les mères et leurs enfants (= Troph.),
type hémoglobinique (= Hb) et titres immunologiques (= IFI).

MÈRES						ENFANTS	
N°	Hb	Trophoz. /mm ³	Sch. /50 champs	Ros.	IFI	Troph. /mm ³	IFI
1	A + A	1740	5	8	400	0	40
2	S + S	2655	2	1	1600	0	800
3	A + S	31661	545	303	1600	0	200
4	A + A	329	18	2	3200	0	3200
5	A + A	458	24	0	1600	6	1600
6	A + S	19095	133	33	3200	0	1600
7	A + A	3864	43	17	6400	0	3200
8	A + S	5237	38	1	800	0	400
9	A + A	3547	60	0	800	205	800
10	A + A	0	42	0	3200	0	1600
11	A + S	10306	284	52	6400	0	6400
12	A + A	506	43	0	12800	0	6400
13	A + A	0	135	0	3200	0	800
13						0	800
14	A + S	1119	125	1	3200	0	3200
15	A + A	0	133	0	1600	0	1600
16	A + A	0	0	0	1600	0	800
17	A + A	0	35	0	6400	0	3200
18	A + A	28697	78	115	3200	0	3200
19	A + A	0	49	0	1600	0	1600
20	A + A	19486	83	7	3200	233	3200
21	A + A	3091	22	3	3200	0	3200
22	A + S	1038	25	0	3200	0	3200
23	A + A	0	24	0	3200	0	3200
24	A + S	173	8	0	3200	0	3200
25	A + S	0	12	0	3200	0	3200
26	A + C	197	1	0	12800	0	12800
27	A + A	0	4	0	6400	0	6400
28	A + A	0	5	0	6400	0	6400
29	A + A	0	4	3	6400	0	6400
30	A + A	0	21	0	6400	0	6400
31	A + C	0	8	0	6400	0	6400
32	A + A	0	20	19	6400	0	6400
32						0	6400
33	A + A	2124	16	0	6400	0	6400
34	A + A	185	12	0	6400	0	6400
35	A + A	0	4	0	6400	266	6400
36	A + A	0	10	2	12800	0	6400
37	A + C	0	6	0	6400	0	6400
38	A + A	313	8	0	6400	0	3200
39	A + A	0	10	0	3200	0	3200
40	A + S	1038	16	0	6400	0	6400
41	A + A	0	41	14	6400	0	
42	A + A	0	21	0	6400	0	6400
43	A + A	0	17	0	6400	0	6400
44	A + S	0	8	0	25600	0	12800
45	A + C	181	19	9	3200	0	3200
46	A + A	0	9	1	6400	0	6400
47	A + C	0	17	0	6400	0	6400
48	A + A	0	17	0	6400	0	6400
49	A + A	0	30	0	3200	0	3200
50	A + A	197	13	0	6400	0	6400
51	A + A	181	8	0	3200	0	3200
52	A + A	164	6	0	6400	0	6400
53	A + S	173	6	0	3200	0	3200

chez leurs enfants (= 1/3 105). La différence de moyenne n'est pas significative ($e = 0,19$). La corrélation entre le titre des mères et celui de leur enfant est hautement significative ($r = 0,84$; ddl = 51).

L'examen des placentas a révélé une très grande fréquence de formes âgées de *P. falciparum*. Tous les placentas, à l'exception d'un seul, présentent des schizontes et nous avons observé des rosaces sur 18 d'entre eux. La corrélation entre la charge parasitaire périphérique de la mère et le nombre de schizontes placentaires est élevée ($r = 0,71$; ddl = 51). En outre, les cinq mères ayant des charges largement supérieures au seuil pyrogénique ont également un nombre de schizontes placentaires élevé et un nombre de rosaces important (tableau I). Rappelons qu'aucun des enfants de ces femmes présentant un accès palustre parasitologique, n'a présenté de troubles cliniques à la naissance, ni dans les heures suivantes. Nous n'avons d'ailleurs décelé de parasite chez aucun d'entre eux.

Les placentas des mères porteuses du trait drépanocytaire (mère AS ou SS) présentent une charge en schizontes et en rosaces plus élevée en moyenne que ceux des mères AA ou AC. Les premières ont une moyenne de 29 schizontes et 3,2 rosaces pour 50 champs, les mères AA ont 20 schizontes et 1,8 rosaces, les mères AC ont 7 schizontes et 1,6 rosaces. Toutefois, ces différences ne sont pas significatives entre elles.

Sur les 12 mères porteuses du trait drépanocytaires (dont une est homozygote), trois présentent tous les critères parasitologiques d'un accès palustre en évolution. Sur les 36 mères AA, deux présentent des critères parasitologiques en faveur d'un accès palustre en cours. Cette différence n'est d'ailleurs pas significative non plus ($e = 0,36$).

DISCUSSION

Notre étude s'est située au cours d'une période de forte transmission (au moins une piqûre infectante par nuit, selon AKOGBÉTO *et al.*, à paraître) chez des femmes venant d'un milieu populaire non ou peu protégé. La pression plasmodiale est donc élevée et le placenta fortement sollicité par une circulation importante de parasites. La fréquence des parasitémies compatibles avec un accès palustre confirme les résultats d'autres auteurs sur la susceptibilité de la femme enceinte, même prémunie, à l'infection palustre (CARNEVALE *et al.*, 1985). Il est toutefois remarquable qu'aucune de ces femmes n'ait présenté d'accès clinique.

En ce qui concerne le paludisme, le placenta joue efficacement son rôle de filtre sélectif. Les parasites de la mère sont arrêtés, alors que les anticorps traversent la barrière placentaire. Selon DRUILHE *et al.* (1978), les antigènes plasmodiaux passent également dans la circulation fœtale, ce qui permet l'immunisation active partielle du nouveau-né. Ainsi le paludisme congénital apparaît exceptionnel, même en région holoendémique et en période de transmission maximale.

L'observation de schizontes et de rosaces au niveau du placenta permet de faire quelques remarques sur le seuil pyrogénique et sur l'accès palustre chez la femme enceinte comme chez le sujet porteur du trait drépanocytaire. Le placenta joue ici le rôle d'un organe profond où s'effectue une schizogonie active.

Le tableau I montre la relation qui peut exister entre la charge plasmodiale périphérique et la densité en schizontes ou en rosaces du placenta. Il apparaît une excellente corrélation entre la densité parasitaire périphérique et les charges plasmodiales au niveau du placenta. Quelques divergences s'observent cependant. De fortes charges en schizontes sur le placenta peuvent être associées à des densités parasitaires périphériques limites (n° 14) ou nulles (n°s 13 et 15), plus souvent à une absence de rosaces sur 100 champs de placenta. Le prélèvement peut avoir été fait juste avant que ne s'effectue la maturation des schizontes de première génération. Ainsi, il peut apparaître une dissociation importante entre la parasitémie périphérique et la schizogonie, donc le déclenchement d'un éventuel accès palustre clinique : de très fortes densités parasitaires au niveau périphérique peuvent ne pas se traduire cliniquement, à l'inverse un accès palustre clinique peut s'accompagner d'une parasitémie fruste (CHIPPAUX *et al.*, 1989).

L'accouchement est classiquement décrit, surtout chez la primipare, comme une période à haut risque d'accès palustre. D'un point de vue strictement parasitologique, nos observations confirment cette susceptibilité. Plus curieuse est la relative fréquence d'accès palustre parasitologique chez le sujet AS. Si l'on admet que l'une des causes en est la plus grande sensibilité de la femme au cours de la grossesse, cela n'explique pas pourquoi ce sont les sujets AS, habituellement moins sensibles au paludisme clinique, qui présentent la plus grande fréquence d'accès palustre parasitologique. Se fondant sur des résultats expérimentaux, FRIEDMAN (1978) a montré que chez le sujet AS la maturation des schizontes est enrayée par les modifications biochimiques intracellulaires. Celles-ci seraient liées au ralentissement du débit sanguin dans les capillaires profonds qui provoquent l'hypoxie du globule rouge. Un tel scénario est peu probable au niveau du placenta où, d'une part, la circulation sanguine ne se fait pas dans des capillaires, donc n'est pas ralentie, et, d'autre part, la pression en oxygène reste élevée. La falciformation ne se faisant pas, la schizogonie peut s'effectuer normalement même chez les porteurs du trait drépanocytaire. Toutefois, la schizogonie reste limitée au territoire placentaire, ce qui devrait, en principe, réduire la gravité des accès palustres chez ces femmes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Directeur, M. E. ALLARO, et tout le personnel de la maternité La Lagune de Cotonou I pour leur accueil et leur aide au cours de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. CARNEVALE (P.), BOSSENO (M.-F.), PANGUI (E.), MOLEZ (J.-F.) & RICHARD-LENOBLE (D.). — Observations parasitologiques sur le paludisme congénital à l'hôpital militaire de Brazzaville, République Populaire du Congo. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol.*, 1985, 23 (2), 87-94.
2. CHIPPAUX (J.-P.), AKOGBETO (M.), MASSOUBODJI (A.) & ADJAGBA (J.). — Mesure de la parasitémie palustre et évaluation du seuil pathogène en région de forte transmission permanente. 1991, *In* : Études et Thèse, ORSTOM éd., Paris, 55-65.

3. CHIPPAUX (J.-P.), DU SAUSSAY (C.) & AKOGBETO (M.). — Intérêt du dosage des anticorps palustres chez des sujets non immuns en zone holoendémique. *Méd. trop.*, 1989, 49 (4), 409-413.
4. DRUILHE (P.), MONJOUR (L.) & GENTILINI (M.). — Passage transplacentaire des antigènes solubles plasmodiaux. Induction d'une tolérance immunitaire spécifique? *Nouv. Presse Méd.*, 1976, 5 (22), 1430-1431.
5. FRIEDMAN (M. J.). — Erythrocytic mechanism of sickle cell resistance to malaria. *Proc. nat. Acad. Sci.*, 1978, 75, 1994-1997.