

Etude de la morbidité palustre et de la gravité des accès pernicieux chez les porteurs du trait drépanocytaire

Study of morbidity and severity of malaria attacks in sickle cell trait carriers.

J.P. CHIPPAUX⁽¹⁾, A. MASSOUBODJI⁽²⁾, J.C. BOULARD⁽³⁾, M. AKOGBETO⁽⁴⁾

(1) ORSTOM, Antenne OCCGE de Cotonou, Bénin. Adresse actuelle: Centre Pasteur, B.P. 1274, Yaoundé, Cameroun. Tirés à part.

(2) Faculté des Sciences de la Santé, B.P. 188, Cotonou, Bénin.

(3) CNHU Cotonou, Bénin.

(4) Antenne entomologique OCCGE de Cotonou, B.P. 06-2604, Cotonou, Bénin.

The authors made a survey in a permanent high Plasmodium falciparum transmission area to compare frequency and severity of malaria attacks in children belonging to different haemoglobin types before 15 years; 291 young out-patients of the local infirmary and 467 out-patients of the hospital were examined. Diagnosis of malaria was inferred from clinical and parasitological criteria and subsequent evolution of the disease. Pathogenic threshold of parasitaemia was similar in all haemoglobin type groups of children and was about 3,000 parasitized red cells per mm³. Malaria was diagnosed more often among HbAA patients, than among other patients. Mortality rate in AA haemoglobin children was higher than 3 % whereas in sickle cell trait carriers no death could be certainly attributed to malaria. The S gene rate was significantly weaker ($p < 0.05$) in subjects attacked by Malaria (5 %) than in all other groups of children. In the malaria holoendemic areas the susceptibility of S gene carriers appears to be lesser than in AA haemoglobin children and could explain the paradoxically lower rate of mortality in this group.

Severe Malaria. Sickle Cell. Anaemia. Benin.

Une étude a été conduite en zone de forte transmission permanente du paludisme à Plasmodium falciparum pour comparer la fréquence et la gravité des accès palustres chez les enfants de la naissance à 15 ans appartenant à différents groupes hémoglobiniques; 291 enfants se présentant dans un dispensaire périphérique et 467 à l'hôpital ont été examinés. Le diagnostic des accès palustres a été établi sur des critères cliniques, parasitologiques et évolutifs. Le seuil de parasitémie pathogène paraît similaire pour tous les types d'hémoglobine. Il a été estimé à 3 000 hématies parasitées par mm³. Les accès palustres simples ou pernicieux sont significativement plus fréquents chez les sujets ayant une hémoglobine normale que chez les autres. La létalité due au paludisme est supérieure à 3 % chez les enfants AA, alors qu'aucun décès n'a pu être attribué au paludisme chez les porteurs du trait drépanocytaire. La fréquence du gène S s'est révélée significativement moindre ($p < 0,05$) chez les enfants présentant un accès palustre que dans tous les autres groupes d'enfants. Il apparaît que la plus faible fréquence et la moindre gravité des accès palustres chez les porteurs du trait drépanocytaire pourraient expliquer, en zone d'holoendémie, une mortalité réduite dans l'enfance chez ces sujets par rapport aux autres sujets.

Paludisme. Drépanocytose. Accès pernicieux. Anémie. Bénin.

Texte reçu le 3 juin 1991. Acceptation définitive le 19 juin 1992.

INTRODUCTION

L'une des hypothèses permettant d'expliquer la fréquence de la drépanocytose dans les populations d'Afrique intertropicale, est la résistance au paludisme que confère le gène S [1]. Il est admis, en effet, que la mortalité infantile en région d'holoendémie palustre est liée pour une part importante au paludisme. Diverses preuves expérimentales ont été apportées [2], de même que plusieurs arguments épidémiologiques [3, 4]. Toutefois, une étude récente que nous avons menée en région de transmission saisonnière [5], n'a pas permis de confirmer la protection des sujets AS à l'égard de *P. falciparum*. A Cotonou, en revanche, nous avons remarqué [5] une densité parasitaire moyenne à *P. falciparum* significativement plus faible chez les enfants AS que chez les enfants AA. Par ailleurs, en région holoendémique, Bernstein *et al.* [6] ont observé une corrélation significative entre la prévalence du gène S et celle de *P. falciparum*. Cet article se propose de comparer la morbidité palustre, et la gravité des accès, en fonction du phénotype hémoglobinique chez les jeunes enfants de Cotonou, zone de transmission palustre continue à forte recrudescence saisonnière.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

CHOIX DES SUJETS

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

Une seconde enquête a été menée dans le service de pédiatrie du Centre national Hospitalier Universitaire de Cotonou (CNHU) entre mars 1988 et avril 1989. Tous les petits malades acceptés en urgence au cours de six ou sept gardes mensuelles, dont la date était tirée au sort, étaient inclus dans l'étude. 495 enfants de moins de 16 ans ont été examinés.

MESURE ET EXPRESSION DES INDICES PALUDOMÉTRIQUES

Les prélèvements ont été faits à pulpe du doigt avec un vaccynostyle stérile. Pour chaque enfant, il est pratiqué un frottis et un capillaire hépariné. La lame est fixée et colorée au R.A.L.^R (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 permettre l'identification de l'hé-

moglobine et le plasma est utilisé pour le titrage des anticorps palustres.

La densité parasitaire, exprimée en nombre de globules rouges parasités par mm³ (GRP), est calculée selon la formule

$$GRP = H (0,085 X + 0,913) 10^6 / 280N$$

où H est le nombre d'hématies parasitées, X est la valeur de l'hématocrite et N est le nombre de champs examinés à l'objectif à immersion $\times 1000$ [5, 7]. Nous avons lu 75 champs de frottis. La limite de sensibilité est de l'ordre de 100 à 150 trophozoïtes par mm³.

TITRAGE DES ANTICORPS PALUSTRES

Nous avons effectué le titrage des anticorps selon la technique classique d'immunofluorescence indirecte avec des lames Falciparum Spot^R et le conjugué Fluoline H^T (BioMérieux). Les dilutions inférieures au 1/40^e n'ont pas été considérées.

IDENTIFICATION DE L'HÉMOGLOBINE

L'électrophorèse de l'hémoglobine a été effectuée sur acétate de cellulose (Cellogel^R, Sébia) à pH=9, force ionique=0,025 (Tampon tris-glycine, Sébia), sous une différence de potentiel de 200 V. pendant 20 minutes.

CRITÈRES DIAGNOSTICS UTILISÉS

Dans les deux séries malades, les critères adoptés pour établir le diagnostic d'accès palustre, ont été identiques. Nous avons systématiquement tenu compte de la parasitémie, en fonction du seuil déterminé par les études antérieures [7] et vérifié, selon les mêmes méthodes lors de cette étude, pour chaque type d'hémoglobine.

En région d'endémie, l'infection palustre n'est pas toujours associée à un état morbide. Chez les enfants bien portants, il existe une distribution de parasitémies que l'on peut qualifier de « normale ». Chez les consultants, pour chaque classe de parasitémie, nous avons retranché la proportion correspondante de parasitémies « normales » afin d'obtenir une courbe de fréquence de sujets exprimant une plainte et porteurs de *P. falciparum* (fig. 1).

Chez les consultants présentant une parasitémie voisine ou supérieure à ce seuil pathogène, nous avons recherché tous les signes permettant de corroborer le diagnostic, ou susceptibles de modifier la parasitémie du sujet et sa signification pathogénique, tels l'anémie, le titre des anticorps palustres, une splénomégalie et la prise récente d'antimalarique. Enfin, nous avons tenu compte de l'évolution après un traitement spécifique bien conduit. Toutefois, le diagnostic de paludisme n'a pas été retenu en l'absence d'argument biologique probant (parasitémie inférieure au seuil choisis, titre immunologique restant inférieur au 1/40^e après plusieurs semaines d'évolution) ou d'évolution clinique paradoxale (état stationnaire malgré un traitement correct).

Le diagnostic d'accès pernicieux a été porté devant une parasitémie patente associée à un coma confirmé persistant plus de quatre heures et/ou à une anémie hémolytique

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 37.397 ex 1

Cote : B P311 M

21 AVR. 1993

PM 14

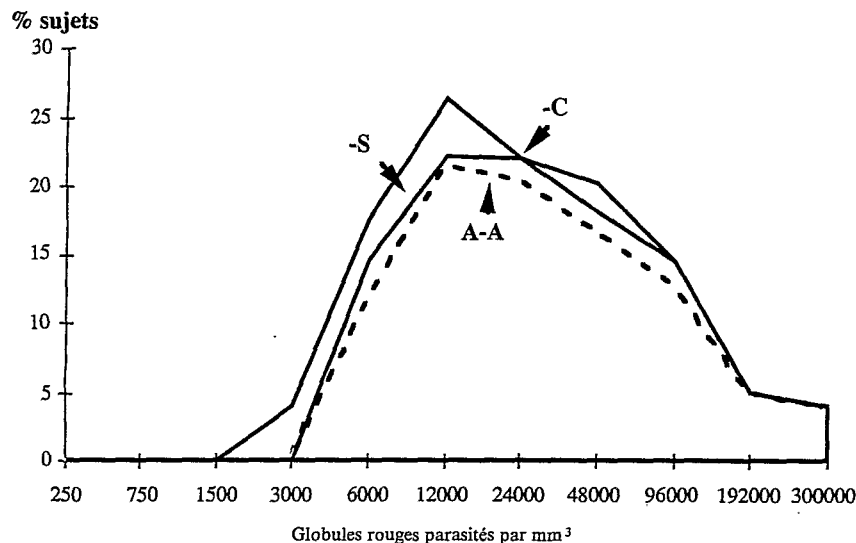


FIG. 1. — Fréquence des consultants présentant une parasitémie plus élevée que dans la population en bonne santé apparente: évaluation du seuil pathogène de la parasitémie en fonction du phénotype hémoglobinique. — Frequency of consultants showing a higher level of parasitaemia than observed in healthy people. The pathogenic threshold of parasitaemia is given by the intersection with parasitaemia axis.

franche. Dans un tel contexte, un éventuel décès était attribué au paludisme. Aucune autopsie n'a pu être faite pour confirmer la cause du décès. Les comparaisons de fréquences ont été effectuées à l'aide du test de Student ou du χ^2 .

RESULTATS

760 enfants de moins de 16 ans, dont 291 à Agblangandan et 467 au CNHU, possédaient un dossier complet. Ils ont tous été inclus dans cette étude. L'effectif des enfants présentant les différents types hémoglobiniques est donnée dans le *tableau I*. La fréquence des accès palustres en fonction de chaque type hémoglobinique, diagnostiqués selon les critères définis ci-dessus et quelle qu'en soit la gravité, figure sur le *tableau I*.

EVALUATION DU SEUIL PATHOGENE DE PARASITEMIE EN FONCTION DU TYPE DE L'HEMOGLOBINE

Le seuil pathogène correspond à la plus petite classe de parasitémie rencontrée chez les

consultants, après en avoir déduit la distribution de la parasitémie « normale ». Sur la *figure 1*, ce seuil apparaît à l'origine de chacune des courbes. Nous n'avons pas observé de différence sensible entre les seuils de parasitémie pathogène en fonction des différents variants hémoglobiniques. Nous avons retenu comme seuil de parasitémie identifiant un accès palustre la valeur de 3 000 hématies parasitées par mm^3 . Nous n'avons pas rencontré de paludisme viscéral évolutif, pour lequel la parasitémie peut être fruste, mais dont le titre immunologique très élevé est associé à un tableau clinique caractéristique.

FRÉQUENCE DES ACCÈS PALUSTRES SELON LE TYPE HÉMOGLOBINIQUE

Le diagnostic de paludisme a été porté chez 142 enfants possédant une hémoglobine normale soit chez 26,1 % des enfants AA (*tableau I*). Ce même diagnostic a été porté chez 17 porteurs du trait drépanocytaire, ce qui

TABLEAU I. — Fréquence des phénotypes hémoglobiniques et fréquence comparée des accès palustres selon l'hémoglobine. — Frequency of haemoglobin phenotypes and prevalence of severe malaria related to haemoglobin types

Type hémog.	CNHU		AGBLANGANDAN	
	effectif consultants	accès palustre	effectif consultants	accès palustre
A + A	338	89 (26,3 %)	206	53 (25,7 %)
A + S	51	3 (5,9 %)	51	11 (21,6 %)
S + S	19	1 (5,3 %)	9	2 (22,2 %)
A + C	21	5 (23,8 %)	21	6 (28,6 %)
S + C	5	0	2	0
«F»	33	2 (6,1 %)	2	0
Total	467	100 (21,4 %)	291	72 (24,7 %)

correspond à 13,1 % des enfants appartenant à ce groupe. La différence de fréquence est significative ($t=3,14$; $p<0,01$), mais elle est nettement plus importante dans le groupe examiné au CNHU. En revanche, la différence de fréquence des accès palustres entre les hétérozygotes AS (13,6 %) et les homozygotes SS (9,7 %) n'est pas significative ($t=0,44$; $p<0,65$).

GRAVITÉ DES ACCÈS PALUSTRES SELON LE TYPE HÉMOGLOBINIQUE

Elle n'a pu être précisée que pour les enfants du CNHU. Dans le dispensaire périphérique d'Agblangandan, nous avons délibérément exclu de cette étude les sujets présentant une affection aiguë grave qui étaient évacués immédiatement sur l'hôpital.

La gravité des accès palustres peut être appréciée par la fréquence des accès pernicieux ou par celle des décès imputables, avec une forte présomption, au paludisme. Chez les sujets AA, la fréquence des accès pernicieux est de 6,5 %, tandis qu'elle n'est que de 1,3 % chez les sujets porteurs du trait drépanocytaire, chez qui un seul enfant AS a fait un accès pernicieux ($t=2,78$; $p<0,01$).

La létalité due au paludisme chez les sujets AA est supérieure à 3,2 %, ce qui représente 12,5 % du nombre total des décès dans ce groupe d'enfants. Nous n'avons observé aucun décès imputable, *a priori*, au paludisme chez les 75 sujets porteurs du trait drépanocytaire de notre série hospitalière. La différence de létalité est également significative ($t=3,34$; $p<10^{-3}$). La fréquence d'enfants porteurs du

trait drépanocytaire décédés au CNHU (10,7 %), est discrètement supérieure à celle des sujets AA décédés (7,1 %), mais la différence n'est pas significative ($t=1,06$; $P>0,28$). Il est à noter que la fréquence des enfants ayant quitté le service sans l'accord de l'équipe hospitalière, est deux fois plus élevée chez les sujets AA (12,1 %) que chez les sujets porteurs du trait drépanocytaire (6,7 %). Bien que non significatif ($t=1,34$; $P=0,18$), ce comportement traduit souvent une aggravation de l'état de l'enfant qui pousse la famille à l'emporter avant le décès pour éviter certains frais.

FRÉQUENCE RELATIVE DES ALLÈLES DE L'HEMOGLOBINE CHEZ LES SUJETS PRÉSENTANT UN ACCÈS PALUSTRE PATENT

La fréquence de l'allèle A est de 85,2 % chez les enfants s'étant présentés à l'une ou l'autre des consultations (Agblangandan et CNHU), ce qui est identique à la fréquence de l'allèle A (85,2 %) chez les enfants de Cotonou [9]. Paradoxalement, si l'on sait que le gène S est source de troubles cliniques importants surtout chez les homozygotes, la fréquence de l'allèle S chez les consultants (11,4 %) n'est pas différente de celle observée chez les enfants en bonne santé (12,9 %; $t=0,71$; $p>0,48$).

Chez les enfants présentant un accès palustre, quelque soit sa gravité, la fréquence de l'allèle A est de 90,9 % et celle de l'allèle S de 5,9 %. Ces différences sont significatives ($\chi^2=8,55$; d.d.l.=1; $p<0,01$) par rapport à la fréquence de ces allèles chez l'ensemble des consultants (*tableau I*), respectivement de 81,3 % et 10,9 %.

DISCUSSION

La fréquence, mais surtout la gravité des accès palustres, apparaissent nettement plus importantes chez les sujets dont l'hémoglobine est normale que chez les porteurs du trait drépanocytaire. Ceci est particulièrement net au niveau du CNHU qui reçoit des malades plus sérieusement atteints que les dispensaires périphériques comme Agblangandan (tableau I). La létalité probablement liée au paludisme est elle-même plus élevée chez les enfants AA que chez les porteurs du gène S, dont la mortalité générale reste toutefois supérieure.

Dans les formations sanitaires africaines, le diagnostic de paludisme est prononcé avec une grande facilité devant tout état pathologique dont l'étiologie n'est pas évidente au premier abord. Notre objectif a donc été de définir un cadre nosologique très strict. Pour éviter tout retard de traitement, nous avons établis des critères de l'accès palustre et de l'accès pernicieux, sans doute excessifs mais, à notre avis, simples et reproductibles. Il était important de ne pas introduire de biais, et c'est pourquoi le diagnostic a été chaque fois porté avant de connaître le phénotype hémoglobinique.

La plupart des études épidémiologiques récentes sont convergentes [3, 5, 6, 10, 11]. Elles constatent que la prévalence et la densité de *P. falciparum* sont peu différentes chez les enfants en bonne santé apparente, qu'ils soient ou non porteurs du trait drépanocytaire. Toutefois, Fleming *et al.* [4] signalent des prévalences et des parasitémiées significativement plus faibles chez les enfants AS en région hyperendémique; Chippaux *et al.* [5], en région holoendémique, ont observé une densité plasmodiale plus faible chez les porteurs du trait drépanocytaire. En revanche, les études sur la morbidité palustre en fonction du phénotype hémoglobinique sont relativement rares.

Au plan expérimental, plusieurs auteurs [2, 12, 13] ont montré par quels mécanismes l'hémoglobine S pouvait induire la lyse de *P. falciparum*. Le ralentissement des hématies dans les capillaires, dû à la cytoadhérence endothéliale, abaisse la pression en oxygène et acidifie le cytoplasme, ce qui entraîne la falciformation

des globules rouges contenant l'hémoglobine S. La membrane cytoplasmique devient perméable aux ions potassium qui s'échappent. Le déficit en potassium provoque la lyse des parasites intracellulaires. Ainsi, selon Friedman [12], la cytoadhérence endothéliale est favorable au développement parasitaire dans les hématies ne contenant pas d'hémoglobine S. Ceci explique également que *P. falciparum* soit la seule espèce concernée : les autres espèces plasmodiales ne présentent pas ce phénomène de cytoadhérence. D'autres processus biochimiques ont été évoqués [13]. La ferriprotoporphyrine IX, toxique pour les *Plasmodium*, est libérée en quantité insuffisante chez les sujets AA et AS pour avoir un effet létal sur les parasites *in vitro*. Chez les sujets SS, la lyse est obtenue grâce à une libération suffisante de ferriprotoporphyrine IX. Cette toxicité ne semble pas spécifique et pourrait donc expliquer les observations de réduction de parasitémie concernant l'ensemble des espèces plasmodiales chez les drépanocytaires homozygotes [3].

Au plan épidémiologique, Garlick [3] avait remarqué dès 1960 que la prévalence des *Plasmodium* et la densité parasitaire moyenne étaient moindres chez les porteurs du trait drépanocytaire. Il avait également montré que la fréquence du gène S était significativement plus faible dans un groupe d'enfants consultants fébriles que dans deux groupes témoins, l'un constitué d'enfants consultants sans syndrome infectieux, le second d'enfants en bonne santé apparente. Deux études récentes confirment ces observations. Joishy *et al.* [11] ont noté que chez 28 indiens présentant un accès palustre grave, trois seulement étaient porteurs du trait drépanocytaire, contre 32 % dans la population d'où étaient issus ces malades. Chez les indiens, toutefois, le gène S connaît une expression différente du gène S identifié dans les populations africaines. Colombo et Felicetti [14], ont apporté un argument indirect en constatant, dans une étude cas-témoin, que la fréquence d'hospitalisation était inférieure de 35 % chez les porteurs du trait drépanocytaires par rapport aux sujets AA, aussi bien en région impaludée (sud du Nigéria) que non impaludée (Etats-Unis d'Amérique).

CONCLUSIONS

Les porteurs du trait drépanocytaire présentent un risque d'infection palustre probablement voisin de celui des sujets ayant une hémoglobine normale. Toutefois, chez eux, la gravité de l'accès est significativement réduite. Ceci, qui n'empêche pas l'immunité de se construire, confère une protection non négligeable en région de forte transmission permanente et pourrait expliquer le maintien du gène S. Une étude semblable devrait être menée en région de paludisme saisonnier pour confirmer le rôle protecteur du gène S dans des conditions épidémiologiques défavorables pour l'acquisition d'une immunité stable.

REMERCIEMENTS: Nous exprimons notre gratitude au médecin chef du Centre de Santé du District de Sèmè Kpodji et au Professeur Vincent Dan, chef du service de pédiatrie du Centre National Hospitalier Universitaire de Cotonou pour leur aide et les encouragements qu'ils nous ont prodigués tout au long de ce travail.

REFERENCES

1. Charlot G., Lefevre-Witier P. : Géographie de la drépanocytose : les causes de sa répartition dans l'Afrique au Sud du Sahara. *Méd. Trop.*, 1978, 38, 167-174.
2. Pasvol G., Wilson R.J.M. : The interaction of malaria parasites with red blood cells. *Brit. Med. Bull.*, 1982, 38, 133-140.
3. Garlick J.P. : Sickling and malaria in Southwest Nigeria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1960, 54, 146-154.
4. Fleming A.F., Storey J., Molineaux L., Iroko E.A., Attai E.D.E. : Abnormal haemoglobins the Sudan Savanna of Nigeria. I. Prevalence of haemoglobins and relationships between sickle cell trait, malaria and survival. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1979, 73, 161-172.
5. Chippaux J.-P., Massougbdji A., Castel J., Akogbeto M., Zohoun I., Zohoun T. : Parasitémiées à *Plasmodium falciparum* ou *P. malariae* chez les porteurs du trait drépanocytaire dans différents biotopes du Bénin. *Rev. Epidemiol. Santé Publ.*, 1992, 40, 246-251.
6. Bernstein S.C., Bowman J.E., Kaptue Noche L. : Population studies in Cameroon. Hemoglobin S, Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and falciparum malaria. *Hum. Hered.*, 1980, 30, 251-258.
7. Chippaux J.-P., Akogbeto M., Massougbdji A., Adjagba J. : Mesure de la parasitémie palustre et évaluation du seuil pathogène en région de forte transmission. In Robert V., Chippaux J.-P., Diomandé L. *et al.*, eds. *Le paludisme en Afrique de l'Ouest*, Etudes et Thèses, Paris, ORSTOM, 1991, 55-65.
8. Chippaux J.-P., Akogbeto M., Massougbdji A. : Le paludisme urbain-lagunaire. Etude de la morbidité palustre dans un dispensaire périphérique de Cotonou (Bénin). In Robert V., Chippaux J.-P., Diomandé L. *et al.*, eds. *Le paludisme en Afrique de l'Ouest*, Etudes et Thèses, Paris, ORSTOM, 1991, 67-75.
9. Chippaux J.-P., Akogbeto M. : Le paludisme urbain-lagunaire. Enquête longitudinale à Cotonou (Bénin). In Robert V., Chippaux J.-P., Diomandé L. *et al.*, eds. *Le paludisme en Afrique de l'Ouest*, Etudes et Thèses, Paris, ORSTOM, 1991, 37-53.
10. Carnevale P., Bosseno M.F., Lallemand M., Feingold J., Lissouba P., Molinier M., Mouchet J. : Le paludisme à *Plasmodium falciparum* et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. I. Relation entre la parasitémie et le trait drépanocytaire à Djoumouna (région de Brazzaville). *Ann. Génét.*, 1981, 24, 100-104.
11. Joishy S.K., Hassan K., Lopes M., Lie-Injo L.E. : Clinical, genetic and fertility studies of Indians with Beta^S-globin gene and the influence of Hb S on *Plasmodium falciparum* malaria infection. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1988, 82, 515-519.
12. Friedman M.J. : Erythrocytic mechanism of sickle cell resistance to malaria. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1978, 75, 1994-1997.
13. Orjih A.V., Chevli R., Fitch C.D. : Toxic heme in sickle cells: an explanation for death of malaria parasites. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1985, 34, 223-227.
14. Colombo B., Felicetti L. : Admission of Hb S heterozygotes to a general hospital is relatively reduced in malarial areas. *J. Med. Genet.*, 1985, 22, 291-292.