

## Parasitémiés à *Plasmodium falciparum* ou *P. malariae* chez les porteurs du trait drépanocytaire dans différents biotopes du Bénin

*Relationships between Plasmodium falciparum or P. malariae and sickle cell trait in various ecological regions of Benin.*

J.-P. CHIPPAUX<sup>(1)</sup>, A. MASSOUBODJI<sup>(2)</sup>, J. CASTEL<sup>(3)</sup>, M. AKOGBETO<sup>(4)</sup>, I. ZOHOUN<sup>(2)</sup>, T. ZOHOUN<sup>(2)</sup>

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

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

(3) Université Laval, Québec, Canada.

(4) Antenne OCCGE de Cotonou, Bénin.

*The prevalence of malaria and the frequency of gene S were surveyed in two different regions of Benin, savana and coastal lacustrine regions. In both regions, prevalence of malaria was not significantly different between Hb AA people and Hb AS people. Gene S prevalence was not modified by age, excepted for Hb SS which was not found in people upper than 25 years. In holoendemic area, i.e. lacustrine region, means of P. falciparum parasitaemia were significantly lower in Hb AS children than in Hb AA children. Sickle cell trait did not reduce the prevalence of malaria but seemed to decrease the level of parasitaemia.*

*Sickle-Cell Trait. Malaria. Epidemiology. Benin.*

*La prévalence du paludisme en fonction du phénotype de l'hémoglobine et la fréquence du gène S ont été recherchées dans deux différents biotopes du Bénin. Dans aucun d'eux, la prévalence du paludisme n'est significativement différente entre les porteurs du trait drépanocytaire et les autres. De même, la prévalence du trait drépanocytaire n'est pas modifiée par l'âge. En revanche, en région holoendémique, la densité parasitaire moyenne à P. falciparum est significativement plus faible chez les sujets AS que chez les sujets AA. La présence du trait drépanocytaire ne réduit pas le risque d'infection palustre mais semble diminuer l'importance de la parasitémie.*

*Drépanocytose. Paludisme. Épidémiologie. Bénin.*

### INTRODUCTION

L'avantage sélectif des sujets porteurs du trait drépanocytaire vis-à-vis du paludisme reste controversé malgré un nombre croissant de travaux épidémiologiques et expérimentaux qui

semblent étayer cette hypothèse. Il est vrai que la prévalence de *Plasmodium falciparum* chez les sujets AS en bonne santé apparente n'est, en général, pas significativement différente de celle que l'on observe chez les sujets AA [1]. Les infections palustres graves seraient plus rares

chez les sujets AS que chez les sujets AA, ce qui constituerait le principal avantage sélectif des enfants AS. Certains auteurs ont également suggéré que, chez les femmes AS, la fréquence des grossesses menées à terme puisse être supérieure à celle observée chez les femmes AA [2, 3]. Ces auteurs estiment que cette protection partielle est plus facilement mise en évidence lors d'une baisse de transmission (saison sèche ou période succédant à une lutte antimalarique efficace).

Notre contribution a pour objectif l'étude de la parasitémie à *P. falciparum* et *P. malariae* et de l'acquisition des anticorps palustres chez des sujets porteurs de différents variants de l'hémoglobine en milieu urbain-lagunaire et en zones rurales de savane boisée. Ces biotopes correspondent à des situations épidémiologiques différentes tant sur le plan parasitologique [4] qu'entomologique [5].

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

#### DESCRIPTION DE LA ZONE D'ÉTUDE ET CHOIX DES SUJETS

La province du Zou est une région de savane arborée humide, située au centre du pays. La moyenne des précipitations varie entre 1 000 et 1 300 mm. Le régime climatique est de type soudanien avec une grande saison sèche et une saison des pluies marquée. La transmission palustre est très élevée entre juin et novembre, période qui correspond à la saison des pluies. Les principales espèces vectrices sont *Anopheles gambiae* s.s. et *A. funestus*. 2 146 sujets de plus de six mois appartenant à 28 villages ont participé à l'enquête. Le choix des sujets a été fait par tirage au sort après stratification basée sur le recensement de 1982 (district, commune, village, quartier ou localité et âge).

Cotonou est placé entre l'Océan Atlantique et le lac Nokoué, vaste lagune d'eau saumâtre. La ville ne comporte aucune dénivellation permettant le drainage des eaux de pluies, ce qui provoque de nombreuses retenues naturelles d'eau douce en saison des pluies et des marécages une grande partie de l'année. Le régime des pluies est de type équatorial avec une grande saison sèche de décembre à mars et une longue saison des pluies d'avril à novembre, coupée d'une « petite saison sèche » en juillet-août. Cotonou est situé sur l'isohyète 1 300 mm. La transmission y est élevée pratiquement toute l'année. Les espèces anophéliennes rencontrées sont essentiellement *A. gambiae* s.s. et *A. melas*. D'un quartier à l'autre, le taux d'inoculation est toujours compris entre 15 et 60 piqûres infectées par homme et par an. Trois quartiers en bordure de lagune ont été choisis. Nous avons tiré au sort des « concessions » au centre de chacun de ces quartiers. Tous les enfants de

moins de douze ans vivant dans ces « concessions » ont été recensés et inclus dans l'enquête. A Agblangandan, l'enquête a concerné 179 enfants, à Ladji, 204 enfants et à Agbato, 160 enfants. Les enquêtes ont été effectuées en saison de plus forte transmission, c'est à dire en saison des pluies.

#### MESURE ET EXPRESSION DES INDICES PALUDO-MÉTRIQUES

En zone de savane, tous les prélèvements ont été faits par voie veineuse, au pli du coude, sur anticoagulant. Le frottis et la goutte épaisse ont été confectionnés à partir d'une goutte de sang provenant de l'aiguille de ponction. A Cotonou, les prélèvements ont été effectués par ponction digitale. L'hématocrite a été mesuré à l'aide d'un capillaire hépariné centrifugé à 10 000 tours par minute pendant cinq minutes. Les lames ont été fixées et colorées au R.A.L.<sup>R</sup> (Rhône-Poulenc). Le culot globulaire a été recueilli pour l'identification de l'hémoglobine. Le plasma a servi pour le titrage des anticorps palustres.

Le calcul de la densité parasitaire se fonde sur la forte corrélation entre le nombre d'hématies et l'hématocrite [6], dont l'équation est  $Y = (0,085 X + 0,913) 10^6$ , où Y est le nombre d'hématies par mm<sup>3</sup> et X la valeur de l'hématocrite. La densité parasitaire (P) est donnée par la formule:

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

où H est le nombre d'hématies parasitées et N est le nombre de champs examinés à l'objectif à immersion (X 1000) [6]. Sur un frottis convenablement tiré, chaque champ à l'objectif « grand champs » permet de visualiser 280 hématies en moyenne. 75 champs de frottis ont été lus. La limite de sensibilité est de l'ordre de 100 à 150 trophozoïtes par mm<sup>3</sup>.

La comparaison des indices plasmodiques a été effectuée à l'aide du  $\chi^2$  ou du test de Student et les densités parasitaires avec le test de Fisher.

#### TITRAGE DES ANTICORPS PALUSTRES

Le titrage des anticorps a été effectué en immunofluorescence indirecte [7] avec des lames Falciparum Spot<sup>R</sup> et le conjugué Fluoline H<sup>R</sup> (BioMérieux). Les dilutions inférieures au 1/40<sup>e</sup> ne sont pas considérées. Les titres moyens correspondent à la moyenne géométrique de l'inverse des titres individuels. En région de savane, 1 897 plasmas ont été analysés et, à Cotonou, 395 plasmas.

#### IDENTIFICATION DE L'HÉMOGLOBINE

L'électrophorèse de l'hémoglobine est effectuée sur acétate de cellulose (Cellogele<sup>R</sup>, Sébia) à pH = 9, force ionique = 0,025 (Tampon tris-glycine, Sébia), sous une différence de potentiel de 200 V pendant 20 minutes.

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

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 37.398 exp 1

Cote : B p31

21 AVR. 1993

PM 14 M

## RÉSULTATS

Nous avons comparé la fréquence de chaque phénotype en fonction de l'âge au sein de l'ensemble de la population. Le  $\chi^2$  nous a permis de vérifier l'homogénéité de la distribution des phénotypes de 0 à 12 ans à Cotonou et de six mois à l'âge adulte en savane. En savane, il n'y a pas de différence significative dans la distribution de l'ensemble des phénotypes entre les différentes classes d'âge (tableau I;  $\chi^2 = 35,84$ ; d.d.l. = 39;  $p > 0,8$ ). A Cotonou, la distribution de fréquence des phénotypes AA et AS en fonction de l'âge, est homogène (tableau II;  $\chi^2 = 6,3$ ; d.d.l. = 4;  $p > 0,15$ ). Toutefois, entre deux et sept ans, la proportion d'enfants AS passe de 16 à 30 %.

TABLEAU I. — Distribution des phénotypes hémoglobiniques en fonction de l'âge en région de savane. - Age related distribution of haemoglobin types in savana.

Age	Effectif	% AA	% AS	% AC	Divers
< 1 an	46	59	22	13	6
1 an	67	69	24	7	0
2 ans	69	67	17	10	6
3 ans	94	67	25	5	3
4 ans	90	67	21	8	4
5 ans	109	67	18	7	8
6 ans	66	73	14	9	4
7 ans	71	66	24	6	4
8 ans	59	73	14	5	8
9 ans	42	67	24	9	0
10 ans	62	68	13	13	6
11 ans	31	61	26	7	6
12 ans	58	59	24	7	10
adultes	1365	65	20	11	4
Total	2229	65	20	10	5

TABLEAU II. — Distribution des phénotypes hémoglobiniques en fonction de l'âge à Cotonou. - Age related distribution of haemoglobin types in Cotonou.

Age	Effectif	% AA	% AS	% AC	Divers
0 à 2 ans	98	78	16	6	2
3 à 6 ans	159	72	23	5	0
7 à 12 ans	90	66	30	4	0
Total	347	72	23	4	1

Les indices plasmodiques de *P. falciparum* sont plus élevés chez les sujets homozygotes AA que chez les porteurs du trait drépanocytaire (tableau III). La différence entre les indices plasmodiques de *P. falciparum* n'est cependant pas significative, pas plus en savane qu'à Cotonou. Toutefois, à Cotonou, les sujets AC semblent manifester une plus forte affinité que les autres pour *P. falciparum* par rapport aux sujets AA ( $t = 2,05$ ;  $p = 0,05$ ), ainsi que par rapport aux sujets AS ( $t = 2,3$ ;  $p < 0,05$ ).

*P. malariae* est trop rare, à cette période de l'année en savane, pour que l'on puisse argumenter sur sa prévalence en fonction du phénotype de l'hémoglobine. Il est présent chez deux sujets sur 1 629 (0,1 %) non porteurs du trait drépanocytaire et chez un porteur du trait drépanocytaire sur 485 (0,2 %). A Cotonou, les sujets porteurs du trait drépanocytaire ont un indice plasmodique de *P. malariae* plus important que les sujets AA. Les différences ne sont cependant pas significatives.

La comparaison des densités parasitaires moyennes chez tous les sujets appartenant aux différents groupes hémoglobiniques n'apporte pas d'arguments nouveaux. En revanche, les densités parasitaires moyennes des sujets dont la parasitémie est supérieure à notre seuil de détection (environ 100 hématies parasitées par  $\text{mm}^3$ ) se révèlent significativement différentes à Cotonou ( $F^2/679 = 22,5$ ;  $p < 10^{-3}$ ), mais pas en savane ( $F^4/172 = 1,2$ ;  $p > 0,05$ ). A Cotonou, la parasitémie moyenne des enfants AS est significativement plus faible chez les enfants AA ( $t = 2,52$ ;  $p < 0,02$ ).

L'analyse de variance effectuée sur les titres d'anticorps palustres en fonction des phénotypes met en évidence une différence significative tant en savane ( $F^4/1886 = 5,9$ ;  $p < 10^{-3}$ ) qu'à Cotonou ( $F^2/386 = 17,6$ ;  $p < 10^{-3}$ ). En savane, les sujets drépanocytaires homozygotes ont un titre moyen identique aux sujets AA, alors que les sujets hétérozygotes AS ont un titre significativement inférieur ( $t = 2,17$ ;  $p < 0,03$ ).

## DISCUSSION

La prévalence élevée de l'hémoglobine S et de l'hémoglobine C est une caractéristique

TABLEAU III. — Indices plasmodiques et densités parasitaires moyennes pour *Plasmodium falciparum* et *P. malariae* en fonction du type de l'hémoglobine. - Plasmodic indexes (= ind. plas.) and means of parasitaemia (= D.P. moy.) for *Plasmodium falciparum* and *P. malariae* related to haemoglobin type.

		Total	AA	AS	SS	AC	SC
Savane	Effectif	2130	1426	408	24	203	53
<i>Plasmodium falciparum</i>	Ind. plas.*	8,3	8,9	6,9	8,3	7,8	5,7
	D.P. moy.**	445	471	368	407	331	801
<i>Plasmodium malariae</i>	Ind. plas.*	0,1	0,1	0	0	0	1,9
Cotonou	Effectif	1305	921	330	3	49	0
<i>Plasmodium falciparum</i>	Ind. plas.*	52,3	52,3	49,7	0	67,3	0
	D.P. moy.**	770	811	693	0	715	0
<i>Plasmodium malariae</i>	Ind. plas.*	3,8	3,5	5,6	0	0	0
	D.P. moy.**	717	615	788	0	0	0

\* indice plasmatique

\*\* densité parasitaire moyenne

connue des populations de cette région d'Afrique. Le maintien du gène S dans une population ne peut s'expliquer que par un avantage sélectif favorisant les hétérozygotes. En effet, les drépanocytaires homozygotes atteignent rarement l'âge adulte. Les sujets AS bénéficieraient d'une mortalité infantile et de l'enfance globale plus faible attribuée à une relative résistance au paludisme [8].

Deux arguments pourraient confirmer la protection conférée par un facteur génétique à l'égard du paludisme. Le premier est d'ordre parasitologique; la prévalence ou l'importance de l'infection devrait être moindre chez les porteurs de ce caractère génétique. Le second est d'ordre démographique; la fréquence du gène au sein de la population soumise au risque, dans la mesure où le paludisme à *P. falciparum* est mortel, devrait croître avec l'âge. Bernstein et al. [9] ont mis en évidence une corrélation significative entre la prévalence du gène S et celle du paludisme indépendamment du contexte épidémiologique. Selon Fleming et al. [3], par contre, l'avantage sélectif, plus marqué lorsque la transmission est naturellement ou artificiellement réduite, serait significatif en

région de transmission saisonnière, mais pas en région de transmission continue.

Les indices paludométriques sont donc à interpréter en fonction du double critère de la situation épidémiologique et de l'âge des sujets participant à l'étude [1]. Dans le Zou, région de savane arborée proche de la bordure côtière, la transmission du paludisme connaît un caractère saisonnier marqué. La prévalence de *P. falciparum* diminue nettement en saison sèche et *P. malariae* devient exceptionnel. Par ailleurs, au début de la saison sèche, les titres immunologiques moyens sont à leur apogée. C'est ce qui explique le choix de cette technique d'évaluation de l'infection palustre dans cette province.

En zone de savane, nous n'avons pas observé de différence de prévalence ni de densité parasitaires en fonction du phénotype de l'hémoglobine. D'autre part, la mortalité ne paraît pas différente entre les porteurs du trait drépanocytaire et les sujets AA puisque la fréquence des hétérozygotes AS est constante de la naissance à l'âge adulte. Toutefois, l'acquisition des anticorps antipalustres est plus lente chez les porteurs du trait drépanocytaire que

chez les homozygotes AA ou les sujets AC, comme si le développement parasitaire était moins intense ou moins fréquent. En tout état de cause, il ressort de ces résultats qu'en savane la fréquence de l'infection est similaire chez les sujets AA et AS. Rien ne permet de dire non plus si les densités parasitaires sont différentes en saison des pluies, période de forte transmission. Trois raisons peuvent expliquer que cet avantage sélectif soit peu marqué dans cette région :

— le paludisme pourrait être, en savane, une cause de décès moins fréquente qu'à Cotonou ;

— la mortalité palustre, tout aussi importante qu'en région holoendémique, serait répartie sur une plus longue période de la vie ; elle concernerait les adolescents, voire même les adultes, ce qui n'est pas le cas à Cotonou ;

— d'autres causes de mortalité interféderaient avec la létalité palustre.

A Cotonou, la prévalence du paludisme est similaire chez tous les enfants quelque soit le phénotype hémoglobinique. En revanche, la densité parasitaire moyenne est significativement plus faible chez les porteurs du trait drépanocytaire. Ceci constitue le principal argument en faveur d'une protection conférée par le gène S à l'encontre du paludisme.

Par ailleurs, nous avons observé une augmentation sensible, bien que non significative, de la fréquence des sujets AS en fonction de l'âge. Il serait utile de confirmer cette tendance par l'étude d'un effectif plus important comportant des adultes. Goasguen *et al.* [10] avaient rencontré à Cotonou, dans une étude hospitalière il est vrai, 28,8 % d'adultes porteurs du gène S.

Un argument indirect est encore apporté par l'inversion des taux d'infection à *P. falciparum* et *P. malariae* en fonction du type hémoglobinique. Ce phénomène, qui n'est pas statistiquement significatif, n'est pas retrouvé par tous les auteurs. Pour certains, la protection conférée par le gène S vis-à-vis de *P. falciparum* ne concerne ni *P. malariae*, ni *P. ovale* [3]. Pour d'autres, cette protection s'étend aussi à *P. malariae* [2]. Du point de vue expérimental, il est admis que les raisons justifiant la moindre sensibilité des sujets AS à *P. falciparum* ne

s'appliquent pas aux autres espèces plasmodiales humaines [11]. Ainsi, la prévalence de *P. falciparum*, significativement plus élevée chez les sujets AC, ne semble pas avoir de support expérimental [11].

Ces arguments non significatifs sont toutefois convergents et cela doit inciter à poursuivre les études sur des effectifs plus importants. Contrairement à l'opinion de Fleming *et al.* [3], il semble que ce soit en région de paludisme à transmission continue qu'il convienne d'étudier le rôle protecteur du gène S sur le paludisme. Sans doute, une forte pression du parasite est-elle nécessaire pour que s'exprime cette protection, en raison des nombreuses causes de mortalité qui peuvent interférer avec le paludisme.

#### CONCLUSIONS

La prévalence de l'infection n'est pas significativement abaissée chez les porteurs d'hémoglobine S. En revanche, en région holoendémique, la plus faible densité parasitaire moyenne chez les hétérozygotes AS constitue un argument sérieux en faveur d'une protection partielle du gène S exercé à l'égard de *P. falciparum*. La présence du trait drépanocytaire ne réduit pas le risque d'infection palustre, mais elle diminue l'importance de la parasitémie.

REMERCIEMENTS : Ce travail a bénéficié d'un financement du programme spécial pour la Recherche et la Formation sur les Maladies Tropicales PNUD/Banque Mondiale/OMS (ID 850403), ainsi que d'une subvention du Centre de Recherche pour le Développement International (Canada).

#### RÉFÉRENCES

- 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. 1. Relation entre la parasitémie et le trait drépanocytaire à Djoumouna (région de Brazzaville). *Ann. Génét.*, 1981, 24, 100-104.
- Garlick J.P. : Sickling and malaria in Southwest Nigeria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1960, 54, 146-154.
- Fleming A.F., Storey J., Molineaux L., Iroko E.A., Attai E.D.E. : Abnormal haemoglobin in 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.
- Chippaux J.-P., Akogbéto 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.
- Chippaux J.-P., Akogbéto M., Massougbedji 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.
- Chippaux J.-P., Akogbéto M., Massougbedji 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.
- Ambroise-Thomas P. : La réaction d'immunofluorescence dans l'étude séro-immunologique du paludisme. *Bull. O.M.S.*, 1974, 50, 267-276.
- Charmot 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.
- 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.
- Goasguen J., Labégorre J., Gillet J.-P., Charpin M., Sagnet H., Darracq R. : Etude systématique des hémoglobines chez les hospitalisés adultes à Cotonou. *Méd. Trop.*, 1970, 30, 663-665.
- Pasvol G., Wilson R.J.M. : The interaction of malaria parasites with red blood cells. *Brit. Med. Bull.*, 1982, 38, 133-140.