

Libération d'antigènes de *Loa loa* après traitement par l'ivermectine.

J.-P. Chippaux (1), S. W. Nkinin (2), N. Gardon-Wendel (2) & M. Ducorps (3)

(1) ORSTOM, Centre Pasteur du Cameroun

Adresse actuelle : CERMES, B.P. 10887, Niamey, Niger.

(2) Centre Pasteur du Cameroun, B.P. 1274, Yaoundé, Cameroun.

(3) Hôpital Central de Yaoundé, Cameroun.

Manuscrit n° 1900. " Parasitologie". Accepté le 24 mars 1998.

Summary: *Loa loa* Antigens Release in Blood after Ivermectine Treatment.

*This study concerns 112 patients of whom 104 were followed up. Microfilaricidal treatment of loiasis is sometimes followed by severe adverse reactions. Using an immunodiffusion technique and the measure of microfilaraemia by calibrated thick smear, the authors show that the intensity of adverse reactions is proportional to the quantity of microfilariae eliminated by the treatment. The appearance of *Loa loa* antigens within three days following treatment was evident in 83% of the subjects. Five patients presenting the serious adverse reactions described belonged to this group. However, the precise cause of these adverse reactions, allergic or toxic, has not been demonstrated.*

Résumé :

Le traitement d'une loase par microfilaricide s'accompagne d'effets secondaires parfois sévères. Utilisant une technique d'immunodiffusion et la mesure de la microfilarémie par goutte épaisse calibrée, les auteurs montrent que l'intensité des effets secondaires est proportionnelle à la quantité de microfilaries éliminées par le traitement. L'apparition d'antigènes filariens dans les trois jours qui suivent le traitement est manifeste chez 83 % des sujets. Les cinq patients chez qui des effets secondaires graves ont été décrits appartenaient à ce groupe. Toutefois, l'étiologie précise de ces effets secondaires, allergique ou toxique, n'a pu être démontrée.

Key-words: Diethylcarbamazine - Adverse reaction - Ivermectine - Loiasis - Microfilariae - Central Africa - Africa

Mots-clés : Diéthylcarbazine - Effets indésirables - Ivermectine - Loase - Microfilaries - Afrique centrale - Afrique

Introduction

Le traitement par l'ivermectine d'un patient porteur de fortes charges en *Loa loa* s'accompagne fréquemment d'effets indésirables (2, 5) qui ne sont pas sans rappeler ceux qui sont décrits lors d'un traitement par la diéthylcarbazine (DEC). Les complications neurologiques observées à la suite d'un traitement par la DEC ont été attribuées (1, 4) :

- à des thromboses des capillaires cérébraux autour des microfilaries mortes, bien visibles sur les rares coupes anatomopathologiques effectuées chez quelques patients décédés d'une encéphalite post-thérapeutique ;
 - une réaction allergique due à la libération massive des antigènes parasitaires ;
 - une réaction d'HEIRXHEIMER liée à la neurotoxicité des endotoxines microfilarieuses libérées sous l'influence de la DEC.
- La présence de microfilaries dans le liquide céphalo-rachidien des sujets fortement infectés et présentant une encéphalite à la suite d'un traitement par la DEC ou l'ivermectine a fait suggérer que la forte perméabilité des capillaires sanguins pouvait entraîner une diffusion intra-cérébrale de l'ivermectine dont la neurotoxicité est connue.

Quoiqu'il en soit, la sévérité des effets indésirables semble proportionnelle à la charge microfilarémique observée avant le traitement. L'hypothèse d'une libération brutale d'antigènes parasitaires entraînant une réaction toxico-allergique nous a incités à rechercher une augmentation des antigènes cir-

culants après la prise d'ivermectine. Nous avons utilisé la méthode semi-quantitative d'immunodiffusion radiale. Cette technique simple mais peu sensible ne vise pas à expliquer la pathogénie des encéphalites observées au cours de certains traitements de la loase mais à apporter des arguments supplémentaires en faveur de cette hypothèse.

Matériel et méthodes

Nous avons extrait les *Loa loa* adultes lors du passage sous-conjonctival chez des patients atteints de loase. Les vers sont rincés abondamment dans une solution tamponnée (PBS à pH = 7,2), congelés encore vivants dans du PBS et conservés à - 70° C jusqu'à la préparation des antigènes.

Les antigènes sont obtenus par broyage des vers adultes préalablement décongelés, rincés dans une solution physiologique (0,9 % NaCl) à 4° C et séchés entre deux feuilles de papier filtre. Après homogénéisation puis centrifugation, le surnageant est conservé à - 20° C.

Des lapins ont été immunisés pendant deux mois par des injections hebdomadaires d'une solution d'antigènes solubles à 5 mg.l⁻¹. Le sérum du lapin était recueilli après un rappel et testé en immunodiffusion radiale, d'une part contre la solution d'origine et d'autre part contre du sérum de sujets expatriés supposés non infectés par la loase. La première réaction révèle un arc majeur épais, suivi de six autres plus fins et plus proches de l'antigène. La seconde est restée négative.

Nous avons recherché les antigènes de *Loa loa* chez les patients hospitalisés lors de l'étude sur les effets indésirables du traitement par l'ivermectine (3). Ces patients étaient tous porteurs d'une microfilarémie à *Loa loa*, supérieure à 3 000 microfilaries par ml. La microfilarémie a été mesurée à l'aide d'une goutte épaisse calibrée à 30 μ l, effectuée entre 12 et 13 heures. Nous avons utilisé les moyennes géométriques des parasitémies individuelles. Les malades ont reçu 200 μ g.kg⁻¹ d'ivermectine en une administration. Trois prélèvements sanguins ont été faits chez chacun d'eux : le premier avant traitement (J0), le deuxième 12 heures après la prise d'ivermectine (J1) et le dernier 48 heures après (J3). La sévérité des effets indésirables a été appréciée selon une échelle d'impotence fonctionnelle : 0 pour une activité conservée, 1 pour une activité réduite, mais ne nécessitant pas le secours d'une tierce personne, 2 pour une impotence sévère requérant l'aide de quelqu'un et 3 pour l'unique cas de coma observé (3).

Les échantillons de chaque malade ont été analysés simultanément contre l'immunosérum placé au centre. Après diffusion en gélose pendant 48 heures, les plaques ont été lavées et séchées. L'évaluation de la concentration en antigène circulant a été effectuée par comparaison des arcs obtenus en notant à la fois le nombre d'arcs et leur épaisseur. Nous avons comparé ces résultats avec la charge initiale des patients, la réduction de la parasitémie après traitement et la sévérité des troubles cliniques observés au cours de la même période.

Résultats

Nous avons inclus 112 patients, dont 104 ont pu être analysés.

Au plan parasitologique, il y a une correspondance très significative entre l'intensité des effets indésirables et l'importance de la microfilarémie initiale d'une part et, d'autre part, la réduction des charges parasitaires après traitement (tableau I).

Tableau I.

Relation entre la charge microfilarémique et les réactions cliniques observées (intervalle de confiance pour $p = 0,05$).		
Relation between the microfilaremic charge and clinical reactions observed.		
groupe clinique (n)	microfilarémie initiale moyenne mf.30 μ l ⁻¹	moyenne des réductions entre J0 et J3
0 (75)	354 (145-362)	75 \pm 4,3 %
1 (24)	888 (834-945)	75 \pm 1,5 %
2 + 3 (5)	1320 (991-1758)	98 \pm 1,2 %

Le groupe 0 (effets indésirables faibles) est distinct des deux autres ($p < 10^{-5}$). Les patients du groupe 1 (atteints sévèrement mais autonomes) diffèrent significativement ($p < 10^{-2}$) de ceux des groupes 2 et 3 (nécessitant une assistance médicale). Chez ces derniers, la lyse des microfilaries est significativement plus importante ou plus rapide puisque, à J3, il ne reste en moyenne que 2 % de la charge initiale contre 25 % chez les patients des deux autres groupes (tableau I). Par ailleurs, dans ce dernier groupe, la quantité absolue de microfilaries éliminées par le traitement est, en moyenne, de 62 130 et supérieure à 47 000 chez 95 % des sujets. La moyenne des microfilaries éliminées par le traitement est de 20 000

dans le groupe 1 et inférieure à 7500 chez 95 % des sujets présentant des effets indésirables faibles (groupe 0).

Au plan immunologique, six groupes ont été constitués après lecture des résultats des immunodiffusions et sans tenir compte des observations cliniques ni des résultats parasitologiques. Sept sujets étaient négatifs pour leurs trois sérums (groupe A). Quatre présentaient une concentration d'antigènes égale pour les trois prélèvements (groupe B). Sept patients avaient une concentration d'antigènes décroissante de J0 à J3 (groupe C). En revanche, chez 86 patients, la concentration augmentait entre J0 et J3. Chez 34 sujets, l'augmentation a été progressive et régulière entre J0 et J3 (groupe D1); pour 37 autres, l'augmentation n'est apparue qu'entre J1 et J3 (groupe D2), alors que pour les 15 derniers, elle s'observe entre J0 et J1, puis la concentration en antigènes reste constante entre J1 et J3 (groupe D3). Il n'apparaît aucune différence significative entre les différents groupes, sauf entre le groupe C et les autres. Dans ce groupe, en effet, la microfilarémie initiale et la réduction de la microfilarémie sont plus faibles.

Toutefois, les cinq sujets des groupes 2 et 3 (effets indésirables graves avec perte d'autonomie) et 91 % des patients du groupe 1 (effets indésirables sévères sans perte d'autonomie) présentent une nette augmentation de la concentration en antigènes circulants entre J0 et J3 (tableau II). Paradoxalement, les sujets chez il n'a pas été observé d'augmentation d'antigènes circulants après traitement (groupes A et B) présentent le plus fort différentiel de microfilarémie après traitement (figure 1). En dehors de deux sujets (sur 11 il est vrai), les effets indésirables ont été bénins. Il est donc peu vraisemblable que l'immunodiffusion ait été faussement négative en raison, par exemple, d'un phénomène de zone.

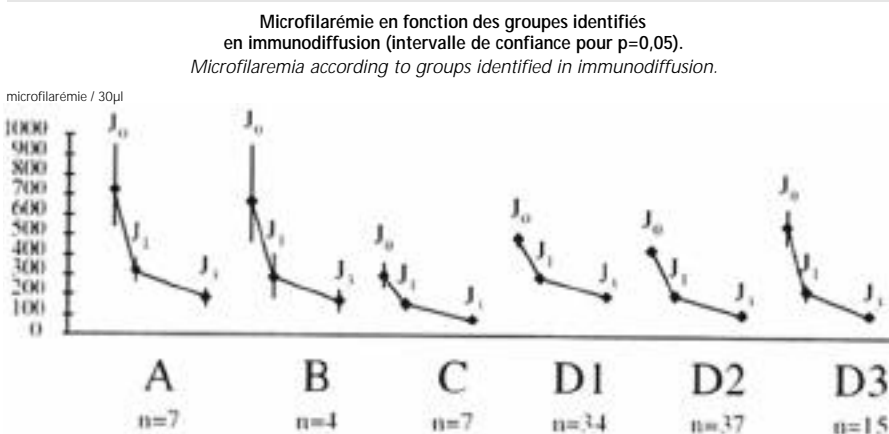
Tableau II.

Sévérité des effets indésirables en fonction des groupes identifiés en immunodiffusion (intervalle de confiance pour $p = 0,05$).

Severity of side effects according to identified groups in immunodiffusion.

groupe immunol. (n)	effets indésirables faibles (groupe 0)	effets indésirables sévères (groupe 1)	assistance médicale (groupe 2)	Coma (groupe 3)
A (7)	5	2	0	0
B (4)	4	0	0	0
C (7)	7	0	0	0
D1 (34)	24	8	1	1
D2 (37)	27	8	2	0
D3 (15)	8	6	1	0
total (104)	75	24	4	1

Figure 1.



(Groupes A = pas d'antigène décelé après traitement ; B = quantité constante d'antigènes ; C = quantité décroissante d'antigènes entre J0 et J3 ; D1 = augmentation régulière d'antigènes entre J0 et J3 ; D2 = augmentation entre J1 et J3 seulement, D3 = augmentation entre J0 et J1 seulement).

Conclusion

Cette étude confirme qu'il existe une relation étroite entre la destruction des microfilaries et l'intensité des effets secondaires. La technique d'immunodiffusion met bien en évidence la libération des antigènes parasitaires après traitement par ivermectine. La méthode manque toutefois de sensibilité puisque, chez certains sujets présentant des troubles fonctionnels après traitement, il n'est pas détecté d'antigène circulant en immunodiffusion. Nous ne pouvons donc pas exclure une réaction allergique qui, *a priori*, serait moins dépendante de la quantité de microfilaries présentes dans l'organisme et/ou détruite. De même, nous ne pouvons éliminer formellement l'hypothèse mécanique des thrombi vasculaires formés autour des microfilaries mortes dans les capillaires cérébraux. Néanmoins, chez tous les patients ayant des effets indésirables sévères, nous avons observé une augmentation de la concentration d'antigènes circulants après traitement. Cela est en faveur de leur implication dans la physiopathologie de ces effets indésirables, renforçant ainsi l'hypothèse immunoallergique. C'est en effet chez les patients qui présentent le plus fort différentiel de microfilarémie entre J0 et J3 que les effets

indésirables sont les plus marqués. Cela confirme donc l'importance de mesurer la microfilarémie avant d'entreprendre tout traitement de la loase ou une administration d'ivermectine chez un sujet susceptible d'être infecté par *Loa loa*.

Références bibliographiques

1. CARME B, BOULESTEIX J, BOUTES H & PURURHCE MF - Five cases of encephalitis during treatment of loiasis with diethyl-carbamazine. *Am J Trop Med Hyg*, 1991, **44**, 684-690.
2. CHIPPAUX JP, BOUSSINESQ M, GARDON J, GARDON-WENDEL N & ERNOULD JC - Severe adverse reaction risks during mass treatment with ivermectin in loiasis-endemic areas. *Parasitology Today*, 1996, **12**, 448-450.
3. DUCORPS M, GARDON-WENDEL N, RANQUE S, NDONG W, BOUSSINESQ M *et al.* - Effets secondaires du traitement de la loase hypermicrofilarémique par l'ivermectine. *Bull Soc Path Ex*, 1995, **88**, 105-112.
4. FAIN A - Les problèmes actuels de la loase. *Bull OMS*, 1978, **56**, 155-167.
5. GARDON J, GARDON-WENDEL N, DEMANGA-NGANGUÉ, KAMGNO J, CHIPPAUX JP & BOUSSINESQ M - Serious reactions after mass treatment of onchocerciasis with ivermectin in an area endemic for *Loa loa* infection. *The Lancet*, 1997, **350**, 18-22.