

# Triple infestation plasmodiale chez deux sœurs jumelles originaires de la République Démocratique du Congo.

G. Galeazzi (1), F. Ardoin (2), J. C. Petithory (2) & C. Laurent (3)

Collaboration technique : J. Chassaing (1), G. Letournier (1)

(1) Unité de parasitologie-mycologie, Hôpital Louis Mourier 92701 Colombes Cedex, France.

(2) Qualité en parasitologie et biologie, Département E.Brumpt, Centre hospitalier, 95503 Gonesse, France.

(3) Service de pédiatrie, Hôpital Louis Mourier, 92701 Colombes Cedex, France.

Manuscrit n°2438. "Clinique". Reçu le 4 juin 2002. Accepté le 26 décembre 2002.

**Summary:** Rare triple malaria infection observed on twin sisters coming from the Democratic Republic of Congo.

Infections with 3 species of malaria parasites are rarely encountered and observed in less than 0.05% of cases. We came across such an infection in four year-old, monozygote twin sisters, coming from Kinshasa (Democratic Republic of Congo). In both of them, parasitemia was low or very low for *P. falciparum* and *P. ovale* and of 0.1-0.2% for *P. malariae*. The twin sisters presented with an iron deficiency anaemia, associated with an heterozygous sickle-cell anaemia and a moderate splenomegaly. The biological tests results were similar. They responded well to treatment. We point out the difficulty in recognizing the concomitant presence of several species of hematozoaire on blood smear.

**Résumé :**

Des triples infestations plasmodiales sont rarement observées, moins de 0,05 % des cas de paludisme. Nous avons eu l'occasion de diagnostiquer une infestation par *P. falciparum*, *P. ovale* et *P. malariae* chez deux sœurs jumelles monozygotes de 4 ans, venant de Kinshasa (République Démocratique du Congo). La parasitémie pour *P. falciparum* et *P. ovale* était faible à très faible, celle pour *P. malariae* était à 0,1-0,2 %. Elles présentaient toutes les deux une anémie ferriprive. Les résultats de leurs examens biologiques étaient quasiment identiques. Elles présentaient également une drépanocytose hétérozygote et une splénomégalie modérée. La guérison a été facilement obtenue. Nous rappelons la difficulté de reconnaître la présence concomitante de plusieurs espèces d'hématozoaires sur frottis sanguin.

malaria  
triple infection  
gemellity  
sickle-cell anaemia  
Democratic Republic of Congo  
Sub-Saharan Africa

paludisme  
triple infestation  
gemellité  
drépanocytose  
République Démocratique du Congo  
Afrique intertropicale

## Introduction

Une seule espèce plasmodiale, et le plus souvent *Plasmodium falciparum* (à plus de 80 % (3)), est responsable de la majorité de cas de paludisme d'importation en France. Des infestations palustres doubles, moins de 3 %, sont diagnostiquées de temps en temps (11), principalement *P. falciparum* associé à *P. ovale* ou à *P. malariae*. Les triples infestations sont encore plus rarement décrites (moins de 0,05%). Nous rapportons l'observation d'une triple association *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*, découverte au décours d'un accès de paludisme chez deux sœurs jumelles originaires de la République Démocratique du Congo (ex-Zaïre).

## Observations

L Rana et Randy ont été admises à l'hôpital pour bilan d'une fièvre nocturne.

Ce sont des jumelles monozygotes âgées de 4 ans. Elles sont nées et vivent à Kinshasa (République Démocratique du Congo), passent régulièrement les grandes vacances chez leur grand-mère dans un village de forêt. Elles n'ont jamais eu d'accès palustre diagnostiqué et

sont arrivées en France un mois auparavant, suite à un regroupement familial. Elles n'ont pas eu non plus de chimioprophylaxie antipaludique. Rana et Randy sont porteuses d'une drépanocytose hétérozygote (Rana : 39,8 % d'hémoglobine S; Randy : 40,2 % d'hémoglobine S).

À l'arrivée dans le service de pédiatrie, elles sont apyrétiques et le resteront durant toute l'hospitalisation. L'examen clinique ne retrouve, chez chacune d'elles, qu'une splénomégalie (Rana : à 2 travers de doigt, Randy : à 3 travers de doigt) associée à une discrète hépatomégalie.

La recherche d'hématozoaires révèle une triple infestation palustre (tableau I) avec une immunofluorescence anti *P. falciparum* positive et un taux élevé d'IgG (tableau II).

Tableau I.

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>
Rana	trophozoïtes < 0,01 % Ag HPR2 +	trophozoïtes schizontes gamétocytes 0,07 %	trophozoïtes schizontes 0,2 %
Randy	trophozoïtes 0,1 % Ag HPR2 +	trophozoïtes gamétocytes 0,005 %	trophozoïtes schizontes gamétocytes 0,1 %

Tableau II.

	Immunologie.			
	sérologie I.F.I. Ag P. falciparum	IgM (g/l)	IgG (g/l)	IgA (g/l)
Rana	+ 1/2000	1,37	22,19	1,45
Randy	+ 1/2000	1,56	25,08	1,42

Chez Rana, l'infestation associée à *P. falciparum*, suspectée à partir de l'observation d'extrêmement rares trophozoïtes, a pu être confirmée par la mise en évidence de l'antigène circulant spécifique HRP2 sur bandelette immuno-enzymatique (ICT Malaria Pf<sup>®</sup>). Le reste du bilan biologique révèle une légère anémie ferriprive (tableau III).

Tableau III.

	Autres examens biologiques.						
	hémoglobine (G/dl)	hématies (T/ml)	VGM (fl)	TCMH (pg)	fer (µg/100ml)	plaquettes (G/ml)	leucocytes (G/ml)
Rana	9,5	4,110	71	23,2	37	245	7,2
Randy	9,2	4,020	70	22,9	24	208	7,4

Elles ont été traitées par une cure d'Halfan<sup>®</sup> (24mg/kg), relayée à J8 par de la Nivaquine<sup>®</sup> (3,5 mg/kg pendant 2 mois), associée à un apport ferrique (Ferrostrane<sup>®</sup> 102mg/j pendant 1 mois). Comme de règle à l'hôpital Louis Mourier, où les enfants ne reçoivent qu'une seule cure d'Halfan<sup>®</sup> en première intention, les deux jumelles ont été revues en hôpital de Jour, à J8 et J30, pour bilan clinique et contrôle parasitologique systématique. Dès J8, la splénomégalie avait disparu, la recherche d'hématozoaires sur frottis mince et goutte épaisse, et de l'antigène HRP2 étaient négatives. L'anémie était corrigée à J30. La quasi-identité des résultats des examens biologiques (tableaux II et III) est à souligner chez ces jumelles monozygotes, comme l'existence concomitante de la triple infestation plasmodiale.

## Commentaires, discussion.

Cette triple infestation diagnostiquée par un examen microscopique minutieux est en concordance avec les données épidémiologiques. Les quatre espèces plasmodiales sont présentes en République Démocratique du Congo, comme en témoigne l'étude réalisée à Kinshasa, en 1982 où, sur 2267 enfants âgés de 0 à 15 ans, 33,8 % avait présenté une parasitémie: 97,9% à *P. falciparum*, 5,9% à *P. malariae*, 1,2 % à *P. vivax*, 0,6 % à *P. ovale* (7).

Cette observation est un exemple de plus montrant que les drépanocytaires font des accès palustres, même si leur gravité est généralement moindre que chez les porteurs d'une hémoglobine normale (5). C'est ALLISON qui, en 1954, partant d'un travail de BEET, avait trouvé que le paludisme en Rhodésie du nord était plus fréquent chez les sujets sains que chez les drépanocytaires et de conclure au rôle protecteur de la sicklémie (2). Malheureusement, il avait fait une erreur dans ses calculs statistiques et cette différence d'accès palustres entre population saine et drépanocytaire n'était pas significative. Ce fait a été confirmé depuis par de nombreuses autres études comparatives. Néanmoins, de nombreux travaux ont établi que les formes graves de paludisme étaient plus rares chez les hétérozygotes AS comme Rana et Randy (1, 4).

Le diagnostic des infestations concomitantes de deux ou trois espèces plasmodiales est difficile. Pratiquement impossible sur goutte épaisse, il nécessite une coloration parfaite et une lecture rigoureuse du frottis, pour ne pas méprendre certains éléments atypiques pour ceux d'une autre espèce. C'est pourquoi, si le diagnostic de l'espèce dominante est habituellement évident, l'espèce secondaire souvent en plus petit nombre ne peut être identifiée que si des formes caractéristiques sont présentes (9). Ainsi, chez les sujets semi-immuns, les trophozoïtes de *P. falciparum* sont moins typiques, prenant un aspect plus trapu, qui peut les faire confondre avec *P. ovale*,

d'autant que la taille des hématies parasitées par *P. ovale* est parfois quasi-normale. Dans ce cas, seule la présence de granulations de Schüffner ou de taches de Maurer permettra de différencier les deux espèces. De même, les trophozoïtes âgés de *P. falciparum* peuvent présenter des grains de pigment en amas, qui peuvent les faire confondre avec *P. malariae* surtout si les taches de Maurer ne sont pas colorées.

L'existence de l'association des quatre espèces plasmodiales a été publiée (10), mais les photographies correspondantes ne sont pas convaincantes quant à *P. vivax*. La coexistence de *P. vivax* et *P. ovale* chez un même individu paraît surprenante. Rappelons que les déterminants antigéniques érythrocytaires Fya et Fyb sont indispensables à la pénétration de *P. vivax*. C'est pourquoi en Afrique subtropicale, où la quasi-totalité de la population noire est porteuse du phénotype (Fy -, Fy-), *P. vivax* est absent et remplacé par *P. ovale* (6). Aussi dans les cas difficiles, il serait souhaitable de vérifier le phénotypage Duffy avant de porter le diagnostic d'une infestation par *P. vivax*.

Au cours de la dernière décennie, la connaissance des génomes des parasites a permis le développement de sondes capables de reconnaître les quatre espèces de *Plasmodium*, après extraction et amplification de l'ADN plasmodial (Polymerase Chain Reaction). Ces techniques de recherche, encore coûteuses, révèlent assez souvent des polyinfestations, alors que l'examen microscopique ne met en évidence qu'une espèce (8, 11). La spécificité de ces sondes commercialisées mériterait une évaluation dans le cadre d'un contrôle de qualité comparatif réalisé en aveugle.

Les techniques immunochromatographiques rapides sur bandelette, de pratique plus courante, peuvent s'avérer utiles pour confirmer un diagnostic d'espèce, notamment dans les très faibles parasitémies, comme ce fut le cas chez l'une de nos patientes.

Quoi qu'il en soit, ces tests qualitatifs, génomiques ou enzymatiques, ne peuvent se substituer à l'observation microscopique pour apprécier les stigmates parasitologiques de gravité d'une crise de paludisme. Le diagnostic microscopique reste encore aujourd'hui la méthode de référence de l'accès palustre. Toutefois, les techniques PCR, du fait de leur grande sensibilité, pourraient trouver une application dans le dépistage des dons impludés des centres de transfusion sanguine.

## Conclusion

Le diagnostic de polyinfestation concomitante plasmodiale est difficile. Il exige une observation microscopique longue, minutieuse et rigoureuse d'un frottis mince parfaitement coloré.

### Remerciements

Nous remercions le Professeur CHARMOT pour ses commentaires en séance, qui apportent des précisions utiles à notre observation.

## Références bibliographiques

1. AIDOO M, TERLOUW DJ, KOLCZAK MS, McELROY PD, O TER KUILE F *et al.* - Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. *Lancet*, 2002, **359**, 1311-1312.
2. ALLISON AC - Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Brit Med*, 1954, **1**, 290-294.
3. CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE POUR LES MALADIES D'IMPORTATION, bulletin n° 15, septembre 1999.
4. CHARMOT G - Facteurs congénitaux et facteurs génétiques dans la résistance au paludisme à *P. falciparum* en Afrique tropicale. *Méd Trop*, 1980, **40**, 657-665.

5. CHIPPAUX JP, MASSOUBODJI A, BOULARD JC & AKOGBETO M – Etude de la morbidité palustre et de la gravité des accès pernicieux chez les porteurs du trait drépanocytaire. *Rev épidémiol santé public*, 1992, **40**, 240-245.
6. MILLER AS, MASON SJ, CLYDE DF & MACGINNISS MH – The resistance factor *Plasmodium vivax* in black the Duffy-blood-group genotype FyFy. *N Engl J Med*, 1976, **295**, 302-304.
7. NGUYEN-DINH P – *Plasmodium falciparum* in Kinshasa (Zaire). *Am J Trop Med Hyg*, 1987, **37**, 217-219.
8. NOVATI S, GRAMEGNA M, BISOFFI Z, MISTRETTA E, SWICRE-ZYNKI J *et al.* – *Balutazione di un kit basato su una metodica di PCR per la diagnosi differenziale delle infezioni malariche umane*. Congresso nazionale associane microbiologi clinicittal-tani, Stresa 21-24 septembre 1999.
9. PETITHORY JC & ARDOIN F – *Parasites sanguins diagnostic bio-logique*. Cahier de formation biologie médicale Bioforma n° 23, décembre 2001.
10. PURNOMO AS, GOMEZ-SALADIN E & BANGS M – Rare quadruple malaria infection in Iran Jaya Indonesia. *J Parasitol*, 1999, **85**, 574-579.
11. SNOUNOU G, VIRIAKOSOL S, JARRA W, THAITHONG S & NEIL BROWN K – Identification of the four human malaria species in field samples by the Polymerase Chain Reaction and detection of a high prevalence if mixed infections. *Mol Bioch Parasitol*, 1993, **58**, 283-292.

## Intervention de M. Charmot

Cette communication est intéressante et je voudrais faire trois commentaires.

Tout d'abord, le taux d'anticorps est exactement le même chez ces deux fillettes, alors qu'il varie dans les limites étendues d'un cas à l'autre. Ce fait traduit sans doute la similitude des nombreux gènes de la réponse immunitaire chez ces jumelles - par ailleurs élevées dans le même environnement - alors que ces gènes sont polymorphes.

Ensuite, l'hétérozygotisme AS confère une protection seulement contre les fortes densités de *P. falciparum*, potentiellement létales en l'absence de traitement, mais non contre les parasitemies de faible densité.

Enfin, le taux faible de la sidérémie, banal chez l'enfant africain, peut ralentir le développement de l'hématozoaire. À ce sujet, je souhaiterais faire la remarque suivante: grâce à ses protéases, le *Plasmodium* utilise les acides aminés de la globine; par contre, c'est le fer plasmattique qu'il capturera pour ses besoins, sans doute parce que beaucoup plus disponible que l'atome de fer de l'hème, solidement ancré dans la molécule tétrapyrrolique. Casser cette dernière serait plus coûteux en énergie que puiser le fer plasmattique, faiblement lié à la transferrine. Ce principe d'économie de l'énergie (OCCAM, XI<sup>e</sup> siècle) est certainement une des contraintes importantes de l'évolution souvent signalée.