

ARTICLE ORIGINAL/ ORIGINAL ARTICLE

**AUTO-ANTICORPS ASSOCIES A L'ACCES PALUSTRE: CAS DES ANTICORPS ANTINUCLEAIRES. PRESENCE OF AUTOANTIBODY ASSOCIATED TO MALARIA: CASE OF ANTINUCLEAR ANTIBODIES**

**DASSE SR<sup>1</sup>, AKRE DP<sup>2</sup>, N'GUESSAN K<sup>1</sup>, SOMBO MF<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>- Service d'Immunologie et Hématologie, CHU de Cocody.

<sup>2</sup>- Service d'Immunologie, CHU Bouaké.

**Correspondance:** Dr Séry Romuald DASSE  
romualddasse@gmail.com

---

**RESUME**

**Introduction.** La polyspécificité des auto-anticorps notamment les anticorps antinucléaires (ANA) pourrait être responsables de réaction croisée, source de manque de spécificité de certains tests de diagnostic immunologique utilisés en zone d'hyperendémie palustre. Avant d'évaluer l'impact de ces auto-anticorps, nous avons jugé opportun de déterminer leur prévalence dans une population de malades de cette région.

**Méthodes.** Il s'agissait d'une étude prospective qui a duré 3 mois. La recherche d'anticorps anti nucléaires par technique d'immunofluorescence (Quanta Fluor ANA®) a été faite chez 500 patients âgés de 10 à 56 ans et souffrant de paludisme. Le calcul de l'odd ratio (OR) nous a permis d'étudier l'influence des facteurs de risque sur la production d'anticorps antinucléaire.

**Résultats:** 112 patients (22,4%) étaient positifs à ANA. Les titres variaient de 32 et 1024 non en rapport avec l'âge. Cependant les taux évoluaient proportionnellement avec la densité parasitaire avec un coefficient de régression (r) égal à 4,8. La densité parasitaire, la fréquence élevée des accès et l'évolution vers les formes graves ont été identifiées comme facteurs de risque d'association des anticorps antinucléaires à l'infestation palustre avec des OR respectivement à 20,3; 3,22; 4,38; 4,7.

**Conclusion:** Cette étude devra être complétée par l'étude d'autres auto-anticorps en zone d'endémie palustre afin de permettre une meilleure appréciation de l'impact de ces auto-anticorps sur la valeur des tests de diagnostic immunologique.

**Mots-clés :** Auto-anticorps, Anticorps antinucléaires, Accès palustre, Facteurs de risque

**ABSTRACT**

**Introduction.** False-positivity and negativity in serological tests used in malaria endemic area could be the fact of auto antibodies such as anti nuclear auto antibodies. Before studying their impact on these tests, it's more interesting to determine their frequency in malaria infection.

**Methods:** In a prospective study during 3 months, 500 patients (aged from 10 to 56 years) with malaria enrolled were investigated for antinuclear auto antibodies. Auto antibodies were performed in IF Quanta Fluor ANA®. The influence of risk factors on antinuclear antibody production was assessed by the odd ratio (or).

**Results:** 112 patients were positive for antinuclear auto antibodies (Frequency 22.4%). The levels of antinuclear autoantibodies were included in a range of 32 to 1024 independently from age but only correlated with the parasitemia ( $r = 4.8$ ). High frequency of malaria crisis, evolution to severe forms of malaria infection and high parasitemia have been identified as risk factors of association of antinuclear auto antibodies in malaria illness patients (or is respectively 20.3; 3.22; 4.38; 4.7).

**Conclusion:** According to this high prevalence, we suggest to complete these results with the study of others autoantibodies in malaria infection or in healthy persons living in malaria area endemic.

**Keywords:** Autoantibodies, Antinuclear antibodies, Malaria, Risk factor

---

## INTRODUCTION

Les anticorps antinucléaires (AAN) sont des auto-anticorps retrouvés le plus souvent dans les maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminé [1]. Cependant il arrive qu'une production de ces AAN soit associée à d'autres pathologies comme les parasitoses<sup>2,3</sup>. Outre leur signification diagnostique dans les maladies auto-immunes, ces auto-anticorps, de par leur polyspécificité, pourraient interférer dans les réactions de diagnostic immunologique et être source de fausses interprétations<sup>4-6</sup>.

Au cours de cette étude, notre but était d'évaluer non seulement la prévalence des AAN au cours du paludisme, parasitose endémique qui évolue de façon pérenne en Côte d'Ivoire mais aussi de rechercher quelques facteurs de risque susceptibles d'influencer la sécrétion de ces AAN au cours de cette affection.

## METHODES

Cette étude prospective transversale à visée descriptive et analytique a duré 3 mois durant lesquels, les malades ont été sélectionnés sur les critères cliniques (hyperthermie, frissons, asthénie), biologiques (présence de parasites dans le sang). Tous ceux qui ont présenté un paludisme associé à une autre infection (bactérienne, virale, parasitaire), à une maladie auto-immune ou prenant tout médicament (antihypertenseur, antidiabétique, corticoïdes etc.) susceptible de générer des AAN n'ont pas été sélectionnés.

Au total 500 malades des deux sexes, âgés de 10 à 56 ans souffrant d'accès palustre ont été inclus. Afin de rechercher d'éventuels facteurs de risque, les patients ont été classés selon : la forme clinique :

\* d'une part en *accès palustre simple et grave* en fonction :

- des critères cliniques (la présence ou non de troubles digestifs, de troubles neuropsychiatriques, de pâleur des conjonctives, de détresse respiratoire, d'état de choc, d'une diurèse inférieure à 400 mL/24 heures chez l'adulte ou à 12 mL/kg/24 heures chez l'enfant);
- Critères biologiques (la présence ou non d'un taux d'hémoglobine inférieur à 5 g/dL avec des constantes hématimétriques normales, d'une glycémie inférieure à 40 mg/100mL, et d'une créatininémie supérieure ou égale à 20 mg/L) ;

\* d'autre part en *accès subaigu* (évolution sur plusieurs semaines d'une symptomatologie comprenant une adynamie, une dyspnée à l'effort, une fièvre irrégulière, des transpirations nocturnes, des troubles gastro-intestinaux, une pâleur conjonctivale et une splénomégalie);

- la fréquence des accès par mois (plus d'un accès traduit une forte fréquence),
- l'âge (supérieur ou inférieur à 15 ans),
- la densité parasitaire: nous avons fait un découpage arbitraire de trois tranches, quel que soit l'âge (une parasitémie inférieure ou égale à 1000 trophozoïtes par µl de sang est la faible densité; entre 1000 et 5000 parasites par µl de sang définit la densité moyenne et au delà, c'est la forte densité parasitaire).

Tous ces patients ont bénéficié de deux prélèvements; l'un sur un tube sec pour la recherche et les dosages des ANA par la technique d'immunofluorescence indirecte à l'aide des réactifs Quanta fluor ANA® de SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR, de la glycémie, la créatininémie éventuellement; le deuxième prélèvement a été effectué sur tube à EDTA pour l'identification et la quantification des parasites par la goutte épaisse et le frottis sanguin et l'hémogramme.

Toutes les données ont été enregistrées grâce au logiciel EPI INFO. Le calcul de l'odd ratio (or) nous a permis d'étudier l'influence des facteurs de risque sur la production d'anticorps antinucléaire.

## RESULTATS

Les résultats de la recherche des anticorps antinucléaires indépendamment de tout facteur d'influence sont présentés dans le tableau I.

**Tableau I** : Résultats globaux du dépistage des anticorps antinucléaires (ANA). **Table I** : Results of screening of antinuclear antibodies (ANA)

ANA	n	%
Positifs	112	22,4
Négatifs	388	77,6
<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>100</b>

L'influence des facteurs de risque «âge, fréquence des accès, forme évolutive» a été évaluée respectivement dans les tableaux II, III, IV, par le calcul de l'odd ratio (OR).

**Tableau II:** Répartition du dépistage des anticorps antinucléaires en fonction de l'âge. **Table II:** Detection of antinuclear antibodies according to age

ANA	> 15 ans	< ou = à 15 ans	Total
Positifs	39 (34,82 %)	73 (65,18%)	112
Négatifs	245 (63,14 %)	143 (36,86 %)	388
<b>Total</b>	<b>284</b>	<b>216</b>	<b>500</b>

OR = 0,31

L'influence de l'âge sur la sécrétion des anticorps antinucléaires est très faible

**Tableau III:** dépistage des anticorps antinucléaires en fonction de la fréquence des accès palustres. **Table III:** Screening of antinuclear antibodies depending on the frequency of malaria

ANA	Plus d'un accès/mois	Un accès/mois	Total
Positifs	84 (75%)	28 (25 %)	112
Négatifs	198 (51%)	190 (49 %)	388
<b>Total</b>	<b>282</b>	<b>218</b>	<b>500</b>

OR = 20,30

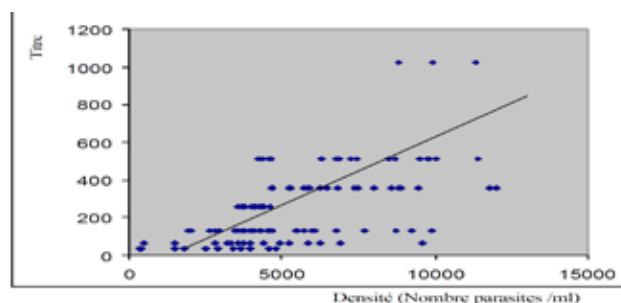
Les malades qui ont eu plus d'un accès palustre par mois ont 20,30 fois plus de risque de sécréter les anticorps antinucléaires.

**Tableau IV:** Dépistage des anticorps antinucléaires en fonction de l'évolution clinique. **Table IV:** screening of antinuclear antibodies depending on the clinical course

ANA	Grave	Subaigu	Simple	Total
Positifs	34 (30,40 %)	25 (22,32 %)	53 (47,28 %)	112
Négatifs	59 (15,20 %)	32 (08,25 %)	297 (76,55 %)	388
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>57</b>	<b>350</b>	<b>500</b>

OR = 0,73 subaigu à grave; OR = 4,38 simple à subaigu; OR = 3,22 simple à grave

Le risque de sécréter les anticorps antinucléaires chez un malade qui passe de l'accès palustre simple à la forme subaiguë était de 4,38 et de 3,32 de l'accès simple à la forme grave. Par contre, le risque était faible quand le malade fait des crises graves sur un tableau subaigu (or = 0,73). L'importance de la relation entre la quantité d'anticorps antinucléaires sécrétés (exprimée en titre de dilution) en fonction de la densité des parasites de l'organisme a été évaluée par la droite de régression ci dessous, de coefficient (r).

**Fig. 1:** Evolution du titre des anticorps antinucléaires en fonction de la densité parasitaire. **Fig. 1:** Evolution of antinuclear antibodies according of parasite density

OR = 4,7 représente le risque de production d'anticorps antinucléaires en fonction de la densité parasitaire. La valeur du coefficient de régression  $r = 4,8$  indique que l'augmentation du titre des anticorps antinucléaires est très fortement liée à celle de la densité parasitaire

## DISCUSSION

Les résultats de ce travail ont montré que 22,4% des nos patients ont produit des AAN quelque soit l'âge, l'évolution et la fréquence des accès palustres (Tableau I); Ce chiffre est comparable à celui de zouali et al.<sup>7</sup> qui ont étudié l'isotype anti-DNA et l'auto-anticorps anti RNA. Ils ont trouvé que 22% de leurs patients (n = 99) avaient des anti-DNA simple brin (ssDNA) avec tous les isotypes d'IgG, alors que 18% avaient des anti-DNA double brin (dsDNA) IgG1. 32% des patients étaient porteurs d'anti RNA et essentiellement IgG1 et IgG2. Nous n'avons pas pu déterminer le caractère isotypique déjà confirmé par Fossati et al.<sup>8</sup>. Nous nous sommes plus intéressés à la fréquence et aux facteurs de risque liés au contexte du paludisme maladie. Les auteurs Boonpucknavig et al.<sup>4,9</sup> ont trouvé chez 98 Thaïlandais souffrant de paludisme à *P. falciparum*, 43,8% de porteurs d'anticorps antinucléaires. Si cette différence ne peut être expliquée par la race au regard de l'étude de Daniel-Ribeiro et al.<sup>10</sup> se rapportant à l'étude des anticorps antinucléaires et anti muscle lisse chez les Caucasiens, Africains et Asiatiques souffrant d'accès palustre, elle pourrait être liée à la sélection de nos patients. En effet, tout sujet présentant un éventuel facteur susceptible d'engendrer un auto-anticorps a été exclu de l'étude. Même si nous n'avons pas recherché les AAN avant l'enrôlement, on pourrait, par cette méthode de sélection, minimiser d'éventuels biais qui permettraient d'introduire des faux positifs (AAN non liés au paludisme).

Cette méthode a été utilisée par Zouali et al.<sup>7</sup>. Il reste que l'association d'auto anticorps aux pathologies infectieuses rapportée dans différentes études<sup>2,4,7,9</sup> pourrait trouver son explication dans la stimulation chronique du système immunitaire face à ces microorganismes. En effet, le *Plasmodium sp.* au cours de son évolution chez l'hôte, est formé d'un arsenal antigénique très diversifié. Ceci constitue pour le parasite un moyen d'échapper à la réponse immune très élaborée au cours du développement de l'espèce. C'est dans cette logique d'évasion au système immunitaire que l'on pourrait situer la génération d'auto-anticorps. Le parasite peut synthétiser des peptides ayant une identité structurale avec certaines protéines de l'hôte. Ceci pourrait être à l'origine soit d'une anergie par la tolérance de ces peptides, soit d'une rupture de la tolérance consécutive à une éventuelle inhibition des T régulateurs CD4+CD25+, une activation du réseau idiotypique, ou même à un phénomène de réaménagement des TCR («receptor editing»). Par ce mécanisme d'auto-immunité engendré, on retrouve le facteur rhumatoïde, les anticorps antinucléaires comme l'ont bien démontré Kataaha et al.<sup>11</sup>. Ils ont étudié la stimulation de la production d'auto-anticorps par les lymphocytes normaux mis en culture avec le plasmodium. Non seulement le surnageant contenant du matériel parasitaire soluble est un bon mitogène pour les cellules mononucléées telle que la cellule dendritique<sup>11,12</sup>, mais surtout l'activation lymphocytaire par ces produits parasitaires induit une réponse polyclonale comme en témoigne la forte sécrétion d'IgA, d'IgG, d'IgM parmi lesquelles on note une activité auto anticorps<sup>11</sup>. Ces auto-anticorps anti-DNA ne semblent généralement pas péjoratifs car différents de ceux retrouvés dans le lupus et qui sont DNA double brin<sup>2</sup>. Ce qui pourrait constituer un inconvénient majeur est l'interférence de ces autoanticorps au cours des procédures (in vitro) de diagnostic biologique à principe basé sur la réaction antigène-anticorps avec la possibilité d'entraîner des résultats qui soient faussement négatifs ou positifs. C'est le cas du facteur rhumatoïde dont l'impact a été évalué dans le cadre du développement des tests de diagnostic immunologique du paludisme<sup>6,10</sup> qui ne devraient pas être applicables à cause de leur très grande sensibilité, en zone d'hyperendémie palustre. Dans les régions tropicales où on assiste fréquemment aux états de co-infection, il est par conséquent nécessaire d'évaluer l'impact de tous ces auto-anticorps liés au paludisme, surtout dans les autres réactions de diagnostic immunologiques (sérologie de

Widal et Félix, de la syphilis, de la toxoplasmose etc.), aussi bien, pendant l'infection palustre comme l'ont fait Ghosh et al.<sup>13</sup> que chez le sujet apparemment sain vivant constamment dans la région d'hyperendémie palustre. Ceci implique avant tout, la détermination de la fréquence de ces différents auto-anticorps dans les deux situations précitées. On pourra définir différents profils de sujets en fonction des facteurs de risque associés. L'interprétation des valeurs prédictives des tests sérologiques utilisés dans ce contexte peut ainsi être améliorée.

Dans ce travail, les facteurs de risque identifiés étaient : l'âge, la densité parasitaire, l'évolution clinique et la fréquence des crises. Si quelque soit l'âge, on peut observer les anticorps anti nucléaires chez le patient souffrant de paludisme (OR = 0,31), le malade court presque cinq fois plus de risque de produire les AAN lorsque sa densité parasitaire augmente (OR = 4,7), et le titre des anticorps antinucléaires augmente proportionnellement à la densité parasitaire ( $r = 4,8$ ). L'association de ce facteur avec la présence des AAN nous conforte dans l'idée d'étudier la prévalence et l'impact des auto-anticorps en général chez le sujet apparemment sain et vivant en zone d'hyperendémie palustre où des personnes abritent souvent de forte parasitémie sans être malades. La fréquence mensuelle des crises de paludisme est un facteur de risque très important dans la survenue des auto-anticorps (OR = 20,3). Cette fréquence élevée des crises était fortement associée à la présence des AAN. Alors que ces auto-anticorps n'ont pas le temps nécessaire pour disparaître du sang après la guérison de la crise précédente comme rapporté par Ghosh et al.<sup>13</sup>, qu'une autre crise survient et génère d'autres auto-anticorps.

Plusieurs formes évolutives du paludisme existent en zone holoendémique; le patient peut passer de la forme simple à la forme subaiguë ou directement de la forme simple à la forme grave. Il peut aussi survenir sur un fond subaigu, la forme grave. Tous les facteurs de risque de passage d'une forme clinique à l'autre ne seraient pas connus. Il faudrait attendre toutes les études sur le transcriptome. Par contre, s'il n'existe pas de risque de génération d'AAN de la forme subaiguë à la forme grave (OR = 0,73), on peut observer que ce risque est trois fois plus élevé en évoluant de la forme simple à la forme grave (OR = 3,22) et quatre fois plus élevé en passant de la forme simple à la forme subaiguë (OR = 4,38). En dehors de l'étude de l'influence raciale par Daniel-Ribeiro<sup>10</sup>, aucune étude de ce facteur

de risque n'a été rapportée. Nous ne savons pas aussi le devenir exact de ces auto-anticorps en zone tropicale après la guérison totale du patient en dehors des rechutes. C'est pourquoi et surtout afin de dégager un profil de sujet chez qui la forte probabilité de sécrétion des auto-anticorps existe, il est nécessaire d'élargir le travail non seulement aux autres auto-anticorps notamment le facteur rhumatoïde mais aussi à la population apparemment saine vivant constamment en zone d'hyperendémie palustre.

## CONCLUSION

En zone d'hyper endémie palustre (Abidjan), 22,4% de malades de paludisme sécrétait des anticorps antinucléaires. La densité parasitaire, la répétition des accès palustres et l'évolution clinique (passage de la forme simple aux formes subaiguë et grave) étaient les principaux facteurs de risque de sécrétion des anticorps antinucléaires identifiés chez le sujet en crise de paludisme.

**Conflit d'intérêt** : aucun

## REFERENCES

- 1- **ASSIM**. Immunité et infections. In: ASSIM (eds) Méthodes en Immunologie. Medsi-McGraw-Hill 1990, Paris, pp. 1-50.
- 2- **Bonfa E, Llovet R, Scheinberg M, De Souza JM, Elkouk KB**. Comparison between auto antibodies in malaria and leprosy with lupus. Clin exp. Immunol. 1987;70(3):529-37.
- 3- **Davis JS**. Rheumatoid factors. In: Cohen AS. (Eds) Rheumatology and immunology. Grune and Stratton 1979, New York, pp. 77-80.
- 4- **Boonpucknaviq S, Ekapanyakul G**. Auto antibodies in sera of Thai patients with *Plasmodium falciparum* infection. Clin exp. Immunol. 1984;58(1):77- 82.
- 5- **Stuart MK, Green TJ**. Monoclonal IgM rheumatoid factor-like and globulins enhance the inhibitory effects of *Plasmodium falciparum* monoclonal antibody in vitro. Parasitology 1990;101:177-85.
- 6- **Thomas H, Martin PG, Thomas J**. False positivity of rapid antigen detection tests for diagnosis of *plasmodium falciparum* malaria: Issue appears to be more complicated than presented. Journal of clinical microbiology 1999;37(11):3781-2.
- 7- **Zouali M, Druilhe P, Eyquem A**. IgG-subclass expression of anti-DNA and anti-ribonucleoprotein autoantibodies in human malaria. Clin Exp Immunol. 1986;66(2):273-8.
- 8- **Fossati L, Merino J, Izui S**. CD4+ T cells play a major role for IgM and IgG anti-DNA production in mice infected with *Plasmodium yoelii*. Clin Exp Immunol. 1990;79(2):291-6.
- 9- **Ribeiro CT, de Roquefeuil S, Druilhe P, Monjour L, Homberg JC, Gentilini M**. Abnormal anti-single stranded (ss) DNA activity in sera from *plasmodium falciparum* infected individuals. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1984;78(6):742-6.
- 10- **Daniel-Ribeiro C, Ben Slama L, Gentilini M**. Anti-nuclear and anti-smooth muscle antibodies in Caucasians, Africans and Asians with acute malaria. J Clin Lab Immunol. 1991;35(3):109-12.
- 11- **Kataaha PK, Facer CA, Mortazavi-Milani SM, Stierle H, Holborow EJ**. Stimulation of autoantibody production in normal blood lymphocytes by malaria culture supernatants. Parasite Immunol. 1984;6(5):481-92.
- 12- **Coban C, Ishii KJ, Sullivan DJ, Kumar N**. Purified malaria pigment (Hemozoin) enhances dendritic cell maturation and modulates the isotype of antibodies induced by a DNA vaccine. Infection and Immunity 2002;70(7):3939-43.
- 13- **Ghosh K, Javeri KN, Mohanty D, Parmar BD, Surati RR, Joshi SH**. False-positive serological tests in acute malaria. Br J Biomed Sci. 2001;58(1):20-3.