

# Approches nouvelles en épidémiologie du paludisme

Jean-François Trape\*, Brian Greenwood\*\*

**Ce n'est que récemment qu'ont été développées des méthodes permettant de mesurer avec précision la morbidité et la mortalité palustres en zone d'endémie.**

**Leur application montre que le poids réel du paludisme n'est pas proportionnel au niveau de la transmission.**

**L'identification des déterminants épidémiologiques et biologiques de la maladie révèle la complexité des interactions entre l'hôte, le vecteur et le parasite.**

**Mieux cerner ces interactions devrait permettre de combattre plus efficacement le paludisme.**

**D**e toutes les grandes endémies tropicales, le paludisme est certainement celle qui depuis le siècle dernier a donné lieu au plus grand nombre de recherches épidémiologiques. Jusqu'à une période relativement récente, ces recherches se sont pour l'essentiel inscrites dans une optique d'éradication de la maladie. Cet espoir a été longtemps entretenu par les succès initiaux obtenus grâce à l'efficacité remarquable des insecticides et des médicaments antipaludiques développés à partir des années 1940. Dans cette perspective, où l'objectif était d'interrompre la transmission du paludisme, les cibles désignées étaient directement le vecteur et le parasite. Sur le plan entomologique, les recherches étaient ainsi axées prioritairement sur l'inventaire et la répartition des anophèles, leur bioécologie et l'étude des facteurs intervenant dans leur capacité vectorielle. L'homme constituant le réservoir de parasites, les recherches le concernant étaient essentiellement des enquêtes de prévalence de l'infection dans différents contextes éco-épidémiologiques, ainsi que l'étude de l'ensemble des facteurs de l'hôte et du parasite intervenant dans le cycle de transmission.

Les années 1970 et le début des années 1980, marquées par la résurgence mondiale du palu-

disme, qui traduisait l'échec de l'éradication, ont été les « années noires » de la recherche épidémiologique, en grande partie occupée à comprendre cette résurgence et à suivre la diffusion des chimio-résistances. L'espoir de l'éradication étant abandonné pour le court et le moyen terme, une redéfinition des objectifs de la lutte antipaludique était nécessaire. C'est ainsi qu'est né le concept de contrôle du paludisme, dont l'objectif central est la réduction de la mortalité et de la morbidité occasionnées par cette affection. Ce nouvel objectif a eu ces dernières années des implications majeures pour le développement de la recherche épidémiologique, car il est rapidement apparu qu'il soulevait de nouveaux défis conceptuels, méthodologiques et opérationnels, en particulier dans le cas de l'Afrique tropicale où surviennent plus de 90% des décès imputables à cette maladie dans le monde.

## Mesurer la mortalité due au paludisme

Le paludisme est habituellement reconnu comme une cause majeure de mortalité de l'enfant en Afrique mais, jusqu'à récemment, l'estimation de l'ampleur réelle du problème n'était guère plus que conjectures plus ou moins étayées.

Fonds Documentaire ORSTOM



010010394

\*Laboratoire de paludologie, ORSTOM, BP 1386, Dakar, Sénégal; \*\*Medical Research Council Laboratories, Fajara, PO Box 273, Banjul, The Gambia.

En particulier, il n'y avait que très peu de données permettant de savoir si le taux de mortalité palustre varie sensiblement d'une région à une autre. Plusieurs approches épidémiologiques nouvelles ont été explorées ces dernières années, permettant quelques progrès vers une détermination plus précise des taux de mortalité palustre.

Dans de nombreuses régions où les décès par paludisme sont fréquents, il n'existe pas de statistiques officielles sur la mortalité générale, ni sur les taux spécifiques par causes de décès. Aussi, des informations précises sur la mortalité ne peuvent être obtenues que par la mise en place de systèmes de surveillance active. Deux méthodes principales sont utilisées pour mesurer les taux de mortalité dans une communauté définie.

La première consiste à réaliser un recensement initial complet de la population qui est répété tous les 6 ou 12 mois [10, 47]. Sont alors recueillis tous les événements démographiques survenus dans cette communauté depuis le précédent recensement, notamment les décès et les naissances.

La seconde méthode comporte l'enregistrement immédiat des décès par une personne qui réside dans la communauté et qui a été désignée pour collecter cette information. Chacun de ces systèmes de recueil de données présente ses propres avantages et inconvénients et les meilleurs résultats sont obtenus quand les deux approches sont utilisées conjointement.

Les variations du taux de mortalité générale en fonction de certaines variables comme l'âge et la saison peuvent fournir des indications sur l'importance possible du paludisme comme cause de décès. Par exemple, si un pic de décès survient chez les enfants à une période de l'année où des observations

indépendantes comme les données des hôpitaux et dispensaires montrent que le paludisme présente également un pic, il est vraisemblable, bien que non prouvé, que le paludisme a contribué de façon importante à ces décès.

Des informations sur les taux de mortalité palustre peuvent également être obtenus à partir d'opérations de lutte anti-paludique [44]. Si une opération de lutte efficace axée exclusivement sur le contrôle du paludisme conduit à une réduction de la mortalité générale d'un pourcentage donné chez les personnes d'un groupe d'âge particulier, il peut alors être raisonnablement déduit que le paludisme est responsable de ce même pourcentage de décès pour le groupe d'âge considéré dans cette communauté. Toutefois, il existe deux facteurs potentiels susceptibles d'interférer et qui doivent être pris en compte avant qu'une conclusion puisse être tirée. D'abord, a été soulevée la possibilité que certains enfants dans une communauté soient particulièrement vulnérables et que, si l'on empêche qu'ils meurent du paludisme, ils mourront assez rapidement d'une autre maladie. Si cette hypothèse est exacte, les résultats d'une campagne de lutte auront alors tendance à sous-estimer l'importance du paludisme comme cause de décès. Inversement, comme le paludisme peut affecter l'état nutritionnel et les défenses immunitaires, il est possible que la prévention du paludisme améliore les chances de survie vis-à-vis d'autres maladies comme les pneumopathies. Dans ce cas, les résultats des études d'intervention contre le paludisme auront tendance à surestimer le nombre de décès directement attribuables au paludisme, mais non les effets globaux de l'intervention. Les rares informations disponibles suggèrent que cette dernière situation est celle qui s'applique le plus souvent [22].

Le recueil d'informations sur la

cause des décès enregistrés lors de programmes de surveillance active peut être sensiblement amélioré par la méthode de l'autopsie verbale. Cette méthode consiste en un recueil standardisé d'informations sur les circonstances du décès à partir d'un questionnaire détaillé qui est rempli en interrogeant l'entourage de la personne décédée. Ce questionnaire, éventuellement complété par toute information de source médicale disponible, est ensuite analysé par un ou plusieurs médecins qui essaient d'établir la cause probable du décès à partir d'une série de critères pré-établis. L'expérience montre que la qualité des informations recueillies par cette méthode dépend considérablement de la formation et de l'expérience de l'enquêteur, les meilleurs résultats étant obtenus quand celui-ci est médecin. La valeur de l'autopsie verbale pour établir la responsabilité du paludisme dans un décès est l'objet de controverse [57, 60].

Dans de nombreuses régions où le paludisme est une cause majeure de mortalité pendant l'enfance, les infections respiratoires aiguës sont également un motif très fréquent de décès. Du fait que le paludisme grave, en particulier en cas d'anémie sévère, peut comme les pneumopathies être accompagné d'une toux et d'une augmentation de la fréquence ventilatoire, l'utilisation d'un questionnaire *post-mortem* peut facilement amener à confondre ces deux affections.

Les causes de décès peuvent être établies avec bien plus de précision chez les personnes qui décèdent à l'hôpital que chez celles qui décèdent à domicile. Dans certaines communautés, seule une très faible proportion de décès survient dans un hôpital et il existe de ce fait un risque important pour que les statistiques hospitalières donnent une vue très biaisée des causes de mortalité de la population dans son ensemble. Toutefois, dans

d'autres communautés où le paludisme est répandu, une proportion importante des décès de l'enfance survient dans des formations sanitaires et, dans ces circonstances, les statistiques hospitalières peuvent permettre une estimation précise des taux de mortalité palustre [14, 23].

L'application des méthodes précédentes à un nombre limité de communautés en Afrique tropicale a permis de mesurer des taux de mortalité palustre variant de 1 à 10‰ annuellement durant les premières années de l'enfance, avec un taux moyen d'environ 5‰. Cela suggère que le chiffre global souvent cité d'environ un million de décès par an par paludisme en Afrique est approximativement exact. Une observation intéressante à partir de l'ensemble de ces études encore peu nombreuses est qu'il ne semble pas y avoir de différences importantes du taux de mortalité palustre entre des régions pour lesquelles le niveau de transmission du paludisme diffère considérablement [11, 19, 26, 64, 67]. À partir d'un certain niveau de transmission, le taux de mortalité n'augmente plus et il semble même que la mortalité palustre puisse être plus faible en zone de très forte transmission qu'en zone de transmission modérée. Dans les régions où la transmission du paludisme est très forte, la majorité des décès attribuables au paludisme survient chez les enfants très jeunes.

### Mesurer l'incidence clinique du paludisme

Chez les personnes sans immunité contre le paludisme, la piqûre d'un anophèle infecté est habituellement suivie d'une infection palustre qui elle-même provoque toujours un syndrome fébrile aigu. Le diagnostic d'un accès palustre repose ainsi sur la mise en évidence de parasites dans le sang

du malade qui permet d'affirmer avec certitude la responsabilité du paludisme.

Pour les personnes résidant en zone d'endémie palustre, le problème du diagnostic des accès palustres se pose tout autrement. Avec la répétition des infections, une immunité partielle se développe progressivement et la plupart des réinfections restent totalement asymptomatiques. C'est particulièrement le cas en Afrique tropicale où dans la plupart des régions rurales et certaines zones urbaines, chaque personne est piquée par des anophèles infectés plusieurs dizaines ou centaines de fois par an, le taux d'inoculation atteignant même parfois 1 000 piqûres potentiellement infectantes par personne par an dans certaines régions d'Afrique centrale [45]. Dans ces régions où la transmission du paludisme est intense, les nourrissons sont infectés dès les premiers mois de la vie. Jusqu'à l'adolescence, des parasites du paludisme sont observables presque en permanence dans le sang de chaque enfant.

Chez les adultes, la prévalence apparente du paludisme est plus faible, généralement inférieure à 30%. Toutefois, la répétition des gouttes épaisses sur une période de quelques mois permet de mettre en évidence des parasites chez la plupart d'entre eux, et une méthode plus sensible comme la PCR indique que la majorité des sujets apparemment négatifs à un moment donné sont en réalité infectés [28].

Dans ces conditions, le diagnostic différentiel du paludisme clinique ne peut reposer sur la seule mise en évidence de parasites dans le sang du malade car une parasitémie sanguine est le plus souvent associée fortuitement à toute maladie, quelle qu'en soit l'étiologie. Ainsi, paradoxalement, c'est pour les populations les plus exposées au paludisme qu'il est le plus dif-

ficile de mesurer l'importance réelle de la pathologie due à cette parasitose.

Ces difficultés méthodologiques ont constitué jusqu'à récemment un handicap majeur pour l'étude de la morbidité palustre, avec pour conséquence une mauvaise connaissance des différentes formes cliniques de la maladie en zone d'endémie et de leurs variations d'incidence en fonction du niveau de la transmission, de l'âge et d'autres facteurs épidémiologiques. L'absence de critères diagnostiques bien définis était également un obstacle majeur pour l'étude des déterminants de la maladie et des mécanismes de l'immunité protectrice, ainsi que pour l'évaluation précise de l'efficacité à moyen et long terme de tout type d'intervention visant à réduire la morbidité palustre.

Pour distinguer le paludisme d'autres causes de fièvre, deux grandes approches ont été explorées ces dernières années. La première a cherché à établir la sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive de critères cliniques et épidémiologiques recueillis chez des malades consultant dans des formations sanitaires. Le petit nombre d'études utilisant cette approche a abouti à des conclusions divergentes quant à l'intérêt de ce type de critères pour identifier un accès palustre [7, 37, 54]. Par ailleurs, du fait de l'absence de définition certaine de référence d'un accès palustre, les résultats statistiques peuvent être fortement dépendants des hypothèses sur lesquelles est basé le modèle testé. En fait, bien que certaines combinaisons de critères cliniques et épidémiologiques – notamment celles incluant le niveau de la fièvre et la saison – puissent dans certaines conditions se révéler nettement discriminantes, il ne semble pas que ce type d'approche offre de réelles perspectives pour améliorer sensiblement le diagnostic des

accès palustres ou quantifier avec précision l'importance de la morbidité palustre.

La deuxième approche explorée ces dernières années est fondée sur la mesure de la parasitémie. Plusieurs travaux anciens ont montré que chez les personnes vivant dans des zones où la transmission du paludisme est intense, la survenue d'accès palustres semblait associée à une augmentation de la densité parasitaire [12, 21, 43]. Ces études suggéraient également l'existence d'un seuil pyrogène de la parasitémie dont le niveau serait fonction de l'âge. Cette approche a été reprise dans plusieurs études récentes de type cas-témoin qui ont comparé les parasitémies de malades fébriles aux parasitémies de personnes asymptomatiques ou consultant pour une pathologie non palustre [26, 50, 58, 63, 67]. D'autres études ont comparé chez des personnes suivies longitudinalement les parasitémies observées en période de fièvre à celles observées en période asymptomatique [17, 53]. Les résultats de toutes ces études ont été concordants sur le fait que la densité parasitaire des malades fébriles est en moyenne très supérieure à celle des contrôles, et pour suggérer qu'avec un risque d'erreur faible il est possible d'utiliser une valeur seuil de la densité parasitaire comme critère diagnostique des accès palustres. Des modèles mathématiques ont ainsi été développés, permettant de calculer la proportion de fièvres attribuables au paludisme en fonction du niveau de parasitémie ou pour définir la valeur seuil la plus discriminante dans une situation épidémiologique et dans des groupes d'âge donnés [5, 50, 53, 56].

La pertinence de l'approche diagnostique basée sur le concept de seuil pyrogène de la parasitémie semble confirmée par une étude récente au Sénégal. En utilisant un

modèle de régression logistique à effet aléatoire pour analyser les données cliniques et parasitologiques recueillies dans une communauté villageoise suivie quotidiennement pendant plusieurs mois, il a été établi l'existence d'un effet seuil dans la relation entre la parasitémie et le risque de fièvre [53]. À un âge donné, le niveau du seuil n'était pas significativement différent entre les individus, mais il variait en fonction de l'âge d'environ 30 000 parasites/ml de sang chez les enfants âgés d'un an à moins de 3 000 parasites/ml chez les adultes de plus de 60 ans. Sur plusieurs milliers de mesures de la densité parasitaire effectuées chez des personnes totalement asymptomatiques sur une période de quelques jours avant et après le prélèvement, seulement 0,3% indiquait un niveau de parasitémie supérieur au niveau du seuil correspondant à l'âge de la personne. Bien que ces observations ne soient pas directement transposables à d'autres populations vivant en zone d'endémie, elles suggèrent qu'une mesure très précise de la morbidité palustre est possible à partir de la mesure de la densité parasitaire et que la notion de seuil traduit bien un phénomène biologique, et pas seulement une valeur statistiquement discriminante de la parasitémie.

### Déterminants des formes graves de la maladie

Seule une faible proportion des personnes infectées par le paludisme développe des complications graves. Un facteur majeur qui détermine la probabilité qu'une infection palustre donne une maladie grave est le niveau d'immunité déjà acquis par la personne infectée du fait de son exposition antérieure au paludisme. Ainsi, les personnes exposées pour la première fois, comme les touristes par exemple, ont un

risque bien supérieur à celui des habitants des zones d'endémie palustre qui ont déjà été infectés de nombreuses fois. Toutefois, toutes les personnes non immunes ne développent pas un paludisme grave même en cas de traitement différé. Cette variabilité dans la gravité de la maladie est rencontrée dans les populations semi-immunes des zones d'endémie palustre. Ainsi, en Afrique, il est estimé que seulement 1% à 2% des enfants infectés avec *Plasmodium falciparum* développent une maladie potentiellement mortelle [27]. En quoi ces infections sont-elles particulières? Récemment, plusieurs études épidémiologiques ont été entreprises pour étudier cette question.

Des différences dans la gravité clinique de l'infection sont fréquemment observées avec d'autres maladies et elles sont parfois en relation avec certaines caractéristiques de l'agent pathogène, comme par exemple la capacité pour certaines souches de *Corynebacterium diphtheriae* à produire une toxine.

Toutefois, jusqu'à récemment, l'idée que les parasites du paludisme puissent ainsi varier en virulence avait été largement ignorée. Cette omission était due en partie au fait que les connaissances sur la façon dont les parasites du paludisme provoquent la maladie étaient très réduites. Il est maintenant généralement admis que l'adhérence des parasites à l'endothélium des petits vaisseaux sanguins de certains organes vitaux, comme ceux du cerveau, et la stimulation de la production par l'hôte de grandes quantités de cytokines, comme le TNF, sont deux des mécanismes par lesquels les parasites de *P. falciparum* provoquent un neuropaludisme. Sur la base de ces nouvelles connaissances, il a été possible de rechercher une possible variation de virulence selon les souches plasmodiales.

De telles études ne sont pas simples à réaliser et sont de plus compliquées du fait qu'il est seulement possible d'obtenir des parasites du sang périphérique, ce qui introduit une sélection susceptible d'écarter les parasites ayant des propriétés d'adhérence. Toutefois, des études effectuées dans deux régions différentes d'Afrique ont montré que les parasites obtenus d'enfants présentant un paludisme grave ont tendance à former des rosettes avec les globules rouges non infectés plus facilement que ceux obtenus d'enfants présentant un accès palustre simple [51, 59]. Une autre étude suggère que les parasites d'enfants avec neuropaludisme sont de meilleurs inducteurs du TNF que ceux recueillis lors d'un accès simple [1]. Ces résultats ne signifient pas forcément que les différences observées expliquent pourquoi certains parasites peuvent provoquer un neuropaludisme et d'autres non, mais ils sont importants car ils montrent pour la première fois que les parasites obtenus de patients avec ou sans paludisme grave diffèrent entre eux par certaines de leurs propriétés biologiques.

Il est généralement admis que des facteurs génétiques de l'hôte peuvent influencer l'évolution d'une infection. La protection contre les formes graves du paludisme à *P. falciparum* dont bénéficient les porteurs du trait drépanocytaire a été l'un des premiers exemples de ce phénomène à être clairement documenté. Le niveau de protection contre le neuropaludisme qui est associé à la possession d'hémoglobine AS est très élevé, mais le mécanisme de cette protection n'est pas entièrement compris. Récemment, deux importantes études de type cas-témoin sur les facteurs de risque du paludisme grave chez des enfants africains ont été effectuées en Gambie et au Kenya.

En Gambie, mais non au Kenya, il a été trouvé qu'une protection

contre le paludisme grave est donnée par la possession de l'antigène Bw53, qui est un antigène HLA de classe I, et de DRB\*1302, qui est un haplotype HLA de classe II [30]. La recherche des mécanismes possibles par lesquels une protection peut être associée à un antigène HLA de classe I a conduit à la découverte des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) qui reconnaissent des peptides de parasites du paludisme associés aux molécules HLA Bw53 sur les cellules hépatiques [31].

Récemment, il a été identifié en Gambie un autre facteur génétique augmentant la susceptibilité aux formes graves du paludisme. Il a ainsi été observé que la proportion d'homozygotes pour un allèle d'un gène impliqué dans la production de TNF est plus élevée chez les enfants atteints d'un neuropaludisme – et en particulier les formes mortelles et avec séquelles – que chez ceux présentant un accès simple [41].

Un autre exemple de la façon dont des caractères génétiques peuvent influencer la susceptibilité au paludisme est donné par *P. vivax*. Cette infection est rarissime chez les Noirs d'Afrique de l'Ouest car leurs globules rouges n'ont pas l'antigène Duffy qui joue un rôle important dans le processus de pénétration de la membrane du globule rouge par le parasite [42]. Si on considère la complexité du cycle de développement des parasites du paludisme et la complexité de la physiopathologie du paludisme clinique, il serait surprenant que d'autres facteurs génétiques influençant la gravité de la maladie ne soient pas découverts à l'avenir. L'importance relative de facteurs socio-économiques comme le niveau de revenu, l'éducation et la connaissance du paludisme comme déterminants de la gravité des infections est controversée. En Gambie, une importante étude cas-témoin où des familles d'enfants

ayant présenté un paludisme grave ont été soigneusement appariées à celles d'enfants ayant présenté un accès palustre simple n'a pas montré de différence socio-économique importante entre les deux groupes [34]. Des observations similaires ont été faites au Kenya. En revanche, à Brazzaville (Congo), la comparaison de familles d'enfants ayant présenté un neuropaludisme avec un échantillon aléatoire de familles résidant dans cette ville a donné des résultats très différents, les familles des enfants avec neuropaludisme étant défavorisées sur le plan social et éducationnel [13]. L'explication de ces différences n'est pas claire et d'autres études sont nécessaires.

Savoir si les caractéristiques de l'hôte ou du parasite ou si les facteurs socio-économiques sont les principaux déterminants de la gravité de la maladie dans le paludisme n'est pas simplement un thème de débat académique, mais avant tout un sujet de grande importance pratique. Si les facteurs socio-économiques sont les déterminants principaux, des mesures comme le renforcement de l'éducation sanitaire et l'amélioration de l'accès aux médicaments devraient avoir un impact majeur sur l'évolution de la maladie. En revanche, si les caractéristiques de l'hôte et du parasite sont les principaux déterminants de la gravité de l'infection, l'évolution future de la maladie pourrait être déjà fixée au moment où l'enfant commence à développer des symptômes, et cela quelles que soient les actions que la famille de l'enfant pourrait entreprendre.

### Paludisme-infection, paludisme-maladie

En raison de l'immunité acquise, seule une faible proportion des infections palustres occasionne des symptômes cliniques chez les personnes souvent réinfectées [24].

Des études épidémiologiques récentes ont permis de préciser l'importance de certains facteurs de risque liés à la transmission, à l'hôte et au parasite.

La probabilité qu'une piqûre d'anophèle infecté occasionne un accès palustre a été étudiée dans différentes situations épidémiologiques. Dans des régions du Congo et du Sénégal où le niveau de transmission est de plusieurs centaines de piqûres infectantes par personne et par an, il a été observé que les jeunes enfants présentaient en moyenne quatre à six accès palustres par an [65, 66]. L'incidence des accès palustres diminuait ensuite rapidement avec l'âge. Chez les grands enfants, elle était inférieure à un accès par an et chez les adultes un accès ne survenait en moyenne que tous les 5 à 10 ans [52]. À un niveau de transmission inférieur d'un facteur 10, soit environ 10 à 50 piqûres infectantes par personne et par an, une étude en Gambie, fondée sur un suivi hebdomadaire, a montré que les jeunes enfants présentaient environ un accès palustre par an [26, 38].

Les résultats préliminaires d'une autre étude en cours au Sénégal suggèrent une fréquence un peu plus élevée des accès palustres chez les enfants, mais montrent aussi que les variations du taux d'incidence en fonction de l'âge sont différentes de celles observées en zone de transmission plus forte, avec un taux d'incidence maximum vers l'âge de 6 ans. Surtout, la réduction de l'incidence des accès palustres en fonction de l'âge chez les adolescents et les adultes semble moins importante qu'en zone de transmission plus forte. Cela a pour conséquence que le nombre total d'accès palustres dans la communauté pourrait être équivalent, voire supérieur, à celui observé dans les régions où la transmission est dix fois supérieure.

Enfin, dans les zones où le niveau de transmission est beaucoup plus

réduit, par exemple seulement une piqûre infectante par personne et par an, il a été observé au Sénégal que chaque piqûre infectante occasionne un accès palustre chez les enfants [62]. Ainsi, ces travaux récents montrent que l'incidence des accès palustres en zone d'endémie n'est pas proportionnelle à la transmission.

À partir d'un certain niveau de transmission, seule une faible proportion des infections transmises provoque un accès palustre et le poids global du paludisme pourrait même diminuer quand la transmission est très forte. Ces observations ont d'importantes implications pour la lutte antipaludique car elles suggèrent que dans la plupart des zones rurales d'Afrique tropicale, seule une réduction considérable de la transmission – bien supérieure à celle qu'il serait possible d'obtenir à large échelle avec les moyens techniques actuels – pourrait réduire durablement la morbidité palustre à l'échelle de la communauté [62].

Bien que le nombre total d'infections palustres auquel une personne a déjà été exposée au cours de sa vie soit un déterminant majeur de la capacité de cette personne à empêcher que de nouvelles infections occasionnent un accès clinique, une étude récente en Indonésie suggère que l'âge intervient dans le niveau de protection indépendamment de l'exposition antérieure cumulée.

Dans une région de forte transmission où des personnes de tous âges originaires d'une région sans paludisme ont été installées dans le cadre d'un programme de mise en valeur agricole, il a été observé qu'après 2 années de résidence l'incidence des accès palustres chez ces personnes nouvellement exposées était devenu identique à celle des personnes du même âge de la population autochtone [6]. Ainsi, les différences d'ancienneté à l'exposition avaient été rattrapées.

Dans ces deux communautés on observait la même décroissance avec l'âge de l'incidence des accès palustres, ce qui suggérerait que la capacité de résister à de nouvelles infections était dépendante de la maturation avec l'âge du système immunitaire.

Dans une même situation épidémiologique, le risque est-il identique pour tous de développer un accès palustre à un âge donné? Peu de facteurs de risque liés aux caractéristiques de l'hôte ont été identifiés jusqu'à présent, mais l'importance de certains d'entre eux est clairement établie.

L'exemple le plus anciennement connu est la grossesse. Probablement en raison d'une dépression de l'immunité à médiation cellulaire sous l'effet des taux élevés de cortisol et d'œstrogènes, les infections palustres sont plus fréquentes chez les femmes enceintes que chez les autres femmes de même âge [40, 49]. En zone de forte transmission l'incidence des accès palustres est augmentée d'un facteur 3 pendant la grossesse [20]. Il est également vraisemblable que certaines maladies déprimant le système immunitaire augmentent la susceptibilité à développer un accès palustre. Toutefois, aucun exemple de ce type n'a été clairement documenté jusqu'à présent.

Le rôle de facteurs génétiques de l'hôte est bien établi mais constitue un domaine encore mal exploré. Le fait d'être porteur d'une hémoglobine AS confère une protection partielle non seulement contre les formes graves du paludisme mais également contre les accès simples [2, 38]. Il en est probablement de même pour le déficit en G6PD [39] et il est vraisemblable que d'autres facteurs génétiques importants restent à découvrir.

Les techniques récentes de biologie moléculaire appliquées à l'étude des parasites du paludisme montrent une grande diversité génétique des populations parasitaires

rencontrées en zone d'endémie [4, 15, 33]. La lenteur et le caractère progressif de l'acquisition d'une immunité protectrice pourraient être expliqués par le long délai nécessaire avant qu'une personne ait été exposée à un répertoire suffisamment vaste de souches différentes. Le polymorphisme des populations parasitaires serait ainsi un des principaux facteurs qui déterminent l'apparition d'un accès palustre chez les personnes soumises à des réinfections fréquentes. Il a également été proposé que différents niveaux de pathogénicité des infections soient génétiquement déterminés [29].

Le typage d'isolats parasitaires est particulièrement long et délicat. Il n'a été réalisé jusqu'à présent que dans un petit nombre d'études et sur un échantillon limité de prélèvements, ce qui explique peut-être qu'il n'existe pas jusqu'à présent d'argument clair en faveur d'un rôle important du polymorphisme du parasite sur l'incidence des manifestations cliniques. En zone de forte transmission, il a été observé qu'un même sujet est habituellement infecté simultanément par plusieurs souches génétiquement distinctes et que leur renouvellement est très rapide, les infections rencontrées pouvant être totalement différentes à quinze jours d'intervalle [18]. Cela est observé aussi bien chez les enfants que chez les adultes, mais la diversité des infections observées chez une même personne décroît avec l'âge [46].

En revanche, en zone de transmission faible et saisonnière, la même souche plasmodiale pourra être retrouvée pendant plusieurs mois après l'arrêt de la transmission, ce qui suggère que le renouvellement rapide des infections observé en zone de forte transmission correspond bien à des souches nouvellement transmises [18]. Bien qu'il soit vraisemblable qu'un accès palustre soit associé à des popu-

lations parasitaires suffisamment différentes de celles des infections précédentes pour ne pas être reconnues par le répertoire immunitaire de l'hôte, il est actuellement encore difficile de réconcilier cette hypothèse avec les données de terrain sur l'incidence des accès palustres en fonction de l'âge et du niveau de transmission qui suggèrent que l'immunité non souche-spécifique a une place centrale dans la protection contre le paludisme maladie.

La mise en évidence du rôle du TNF dans la survenue de fièvre au cours de l'accès palustre [32, 35, 36], puis l'identification de toxines parasitaires capables d'induire la production de TNF par les macrophages et la démonstration que certaines de ces toxines induisent une réponse immunitaire « antimaladie » de courte durée [8, 9, 48, 55] sont plusieurs éléments clefs de découverte récente susceptibles d'expliquer l'observation *a priori* paradoxale selon laquelle les enfants vivant en zone d'endémie tolèrent sans développer de symptômes des charges parasitaires beaucoup plus élevées que les adultes.

L'évolution avec l'âge du fragile équilibre entre l'hôte et le parasite refléterait schématiquement l'évolution inverse de deux grands types d'immunité acquise contre le paludisme, une immunité « anti-parasite » qui réduirait la multiplication et la survie du parasite chez l'homme et une immunité « antimaladie » qui aurait pour cible des toxines parasitaires responsables de la fièvre.

La première, qui implique des cellules T mémoire, se renforcerait progressivement avec la répétition des infections, ce qui expliquerait la diminution de la densité parasitaire au cours de la vie, tandis que la seconde, qui reposerait principalement sur des IgM du fait de l'absence d'épitopes T sur les toxines parasitaires, aurait besoin

d'être en permanence entretenue par le parasite, ce qui expliquerait que des parasitemies de plus en plus faibles avec l'âge soient susceptibles d'occasionner un accès palustre.

### L'évaluation de stratégies de contrôle du paludisme, vaccination incluse

L'objectif de la plupart des programmes de lutte antipaludique est désormais de réduire l'impact de l'infection plutôt que de l'éliminer. En conséquence, le succès ou l'échec de tels programmes doit être jugé en terme d'effets sur la morbidité et la mortalité, et pas seulement sur la parasitemie, car il est possible que des programmes de lutte soient hautement efficaces en ce qui concerne la maladie, tout en ayant peu d'effet sur le niveau d'ensemble de l'infection.

En Afrique, le paludisme est considéré comme un problème majeur de santé publique, avant tout parce qu'il est responsable de nombreux décès chez l'enfant. Un programme de lutte antipaludique ne peut être considéré comme efficace que s'il réduit ces décès. Mesurer la mortalité palustre dans les régions où celle-ci est élevée est d'autant plus difficile que la plupart des décès surviennent en dehors des structures sanitaires et que la méthode de l'autopsie verbale est peu précise pour distinguer les décès par paludisme de ceux provoqués par d'autres infections aiguës.

Ainsi, utiliser les décès par paludisme comme critère de base pour l'évaluation d'un essai de lutte peut être hasardeux. Déterminer l'effet de l'intervention sur la mortalité générale est moins incertain et cette mesure peut être rendue encore plus spécifique en la limitant aux groupes d'âge où les décès par paludisme sont considérés comme les plus fréquents. Toutefois, un effectif de population

beaucoup plus important devient nécessaire pour mettre en évidence un effet de l'intervention sur la mortalité palustre si c'est la mortalité générale qui sert de critère d'évaluation.

Un moyen important, mais peu utilisé jusqu'à présent, d'apprécier l'impact de programmes de lutte sur la mortalité palustre est d'en mesurer l'effet sur le nombre d'admissions pour paludisme grave en milieu hospitalier. De tels cas sont habituellement facilement diagnostiqués et il existe maintenant des critères de l'OMS qui sont généralement acceptés pour définir le paludisme grave [68]. Ainsi, la précision diagnostique de ce type d'évaluation devrait être élevée.

Les formes simples du paludisme peuvent être dépistées par des méthodes de surveillance actives ou passives. Une détection passive dépend de l'appréciation par le malade qu'il est suffisamment malade pour avoir besoin d'un traitement dans un dispensaire ou à l'hôpital. La détection active, où les personnes sont visitées à domicile, est à même de dépister beaucoup plus de formes cliniques atténuées que la détection passive. Là où il existe de bonnes facilités d'accès aux soins, la plupart des personnes malades peuvent consulter en dispensaire et une détection passive peut être tout à fait adéquate. Toutefois, là où cela n'est pas le cas, une surveillance active est nécessaire. Dans les communautés où la prévalence du paludisme est élevée, une surveillance active entraîne le dépistage de très nombreux cas de manifestations cliniques diverses associées à une parasitémie palustre dont celle-ci est ou non responsable. Comme indiqué précédemment, ce problème peut être abordé en déterminant les niveaux de parasitémie qui sont susceptibles d'être associés à un épisode clinique.

La mesure de l'indice plasmodique est un paramètre qui peut être pris en compte dans l'évaluation d'un programme de lutte, mais, même en l'absence de toute modification de l'indice plasmodique, un programme de lutte peut néanmoins être parfaitement efficace en termes de santé publique.

D'une façon générale, la mesure de la densité parasitaire est un volet important de l'évaluation d'un programme de lutte car une parasitémie élevée est habituellement associée à un épisode clinique. La mesure exacte de la densité parasitaire est très astreignante, nécessitant une numération sanguine et la recherche soigneuse des parasites dans un grand nombre d'hématies sur un frottis. Cette méthode est rarement envisageable lors d'enquêtes importantes. Une autre approche qui nécessite seulement une goutte épaisse est la mesure du nombre moyen de parasites par champ microscopique ou par leucocyte. Pour obtenir un compte parasitaire, il faut alors soit standardiser le volume et l'étalement du sang utilisé pour la confection des gouttes épaisses, soit définir une valeur moyenne de la leucocytémie [25, 61].

De nombreux antigènes plasmodiaux – y compris certains de ceux qui sont considérés comme de bons candidats vaccins – montrent une importante variabilité entre isolats. Bien que les connaissances actuelles soient limitées en ce qui concerne l'importance de l'immunité spécifique contre ces variants antigéniques, il paraît possible qu'un vaccin n'ait pas d'efficacité en raison de différences, pour un épitope important, entre les parasites rencontrés dans la zone d'étude et ceux utilisés pour produire le vaccin.

Pour approfondir ce problème potentiellement important, il peut être nécessaire de déterminer le phénotype antigénique des para-

sites recueillis chez les sujets vaccinés et les témoins. Pour certains antigènes, comme MSP1 et MSP2, il est possible de le faire par immuno-fluorescence à partir de cultures de courte durée [16]. Toutefois, la PCR apparaît comme l'outil idéal en raison de sa grande spécificité et de sa sensibilité extrême ; cette méthode a déjà été appliquée à ce type d'études.

L'interprétation des résultats d'essais vaccinaux nécessite la mesure de l'immunogénicité du vaccin dans la population d'étude. Pour certains vaccins, une simple sérologie est suffisante, mais dans d'autres cas il peut être nécessaire d'étudier les réponses immunitaires à médiation cellulaire induites par le vaccin. Ces tests sont moins simples à entreprendre sur le terrain car ils nécessitent généralement de grandes quantités de leucocytes, ce qui peut être difficile à obtenir chez les jeunes enfants.

Toutefois, de nouvelles techniques sont actuellement développées, comme par exemple la détection de cytokines par l'identification de leur ARNm et des tests *in situ* de production intracellulaire de cytokines, ce qui devrait faciliter ce type d'études.

Comme pour d'autres interventions dans le domaine de la santé, la meilleure méthode pour l'évaluation d'une nouvelle stratégie de contrôle du paludisme est l'essai randomisé en double aveugle contre un placebo. Cela est possible dans le cas d'essais chimiothérapeutiques ou chimioprophylaxiques, mais difficilement praticable pour beaucoup d'autres types d'interventions antipaludiques comme la pulvérisation intradomiciliaire d'insecticides ou l'utilisation de moustiquaires imprégnées. Dans de tels cas, tant l'utilisateur que l'équipe qui conduit l'essai savent en général de façon évidente qui bénéficie ou non de mesures préventives. De plus, la



conception d'interventions de lutte est compliquée par le fait que celle-ci peut avoir un impact non seulement au niveau individuel mais également au niveau communautaire. Ainsi, les moustiquaires imprégnées d'insecticides peuvent protéger contre le paludisme à la fois par un effet direct pour la personne concernée mais aussi, selon la proportion de personnes qui les utilisent, par un effet collectif, en réduisant le niveau global de la transmission du paludisme dans la communauté. Pour de telles interventions, il est nécessaire d'utiliser le niveau communautaire plutôt que le niveau individuel comme unité de mesure [3].

Si une étude d'intervention randomisée classique ne peut être faite pour des raisons logistiques ou éventuellement éthiques, d'autres types de protocoles sont nécessaires. Le niveau du paludisme avant et après l'introduction des mesures de lutte peut être mesuré. Toutefois, comme il est susceptible de varier significativement d'une année à l'autre du fait notamment des variations climatiques, le risque existe pour que les changements observés soient attribués à l'intervention alors qu'ils seraient en réalité la conséquence d'un autre facteur environnemental. On peut diminuer ce risque en étudiant parallèlement un groupe témoin avant et après le début de l'opération, même si ses caractéristiques sont susceptibles de ne pas être strictement identiques à celles du groupe d'étude. Lorsqu'il existe des arguments très solides en faveur de l'efficacité d'une intervention, des raisons éthiques peuvent s'opposer à un essai contrôlé. Dans ces circonstances, un protocole, où groupe d'étude et groupe témoin alternent, peut être utile. Dans ce type de protocole, l'intervention est introduite par étapes. Initialement, un seul groupe est sous intervention, tous les autres servant de témoin.

À l'issue d'une période donnée, l'intervention est introduite dans un autre groupe. L'enquête progresse ainsi par étapes et, en fin d'étude, la plupart des sujets seront sous intervention, très peu restant dans le groupe témoin. Toutefois, il existe aussi des facteurs de confusion possibles avec ce type de protocole, notamment en raison des variations régionales et saisonnières de la transmission. Des méthodes de type cas-témoin ont souvent été utilisées avec succès pour évaluer des programmes de santé, mais sont restées peu employées dans le cadre de programmes de lutte antipaludique. Elles peuvent être appliquées aux décès par paludisme, à l'ensemble des décès dans un groupe particulièrement à risque, aux cas de paludisme grave admis dans un hôpital ou aux accès palustres simples chez les personnes consultant dans un dispensaire. Comme pour toute étude cas-témoin, des critères très soigneux de sélection des témoins sont nécessaires. Ce type d'approche peut être particulièrement adapté à l'évaluation d'interventions comme les moustiquaires imprégnées qui sont difficiles à évaluer par des essais randomisés classiques.

## Conclusion

Ces 10 dernières années ont connu une évolution importante de l'objet et des méthodes de la recherche épidémiologique sur le paludisme. Il est sans doute paradoxal, pour une maladie aussi étudiée – et depuis si longtemps – que le paludisme, qu'un volet majeur des développements récents de la recherche ait concerné l'évaluation précise de la mortalité et la morbidité dues à cette endémie.

La question des déterminants du paludisme-maladie, par opposition au paludisme-infection, est désormais au centre de la recherche

épidémiologique. Elle s'inscrit dans une double perspective : d'une part permettre, à partir des moyens de lutte déjà disponibles, de définir les stratégies de lutte antipaludique les plus efficaces pour une réduction durable de la mortalité et la morbidité palustre, d'autre part contribuer, par une meilleure compréhension des mécanismes de l'équilibre hôte-parasite, au développement d'outils de lutte nouveaux, en particulier le vaccin.

## RÉFÉRENCES

- 1 Allan RJ, Bate C, Boele van Hensbroek M, Morris-Jones S, Greenwood BM, Kwiatkowski D (1994) Relationship between the severity of *falciparum* malaria and strain variation in TNF induction by the parasite (soumis pour publication)
- 2 Allen SJ, Bennett S, Riley EM, Rowe PA, Jackobsen PH, O'Donnell A, Greenwood BM (1992) Morbidity from malaria and immune responses to defined *Plasmodium falciparum* antigens in children with sickle cell trait in the Gambia. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 86, 494-498
- 3 Alonso PL, Lindsay SW, Armstrong JRM *et al* (1991) The effect of insecticide-treated bednets on mortality of Gambian children. *Lancet* 337, 1499-1502
- 4 Anders RF, Smythe JA (1989) Polymorphic antigens in *Plasmodium falciparum*. *Blood* 74, 1865-1875
- 5 Armstrong Schellenberg JRM, Smith T, Alonso P, Hayes R (1994) What is clinical malaria? Finding cases definitions for field research in highly endemic areas. *Parasitol Today* (sous presse)
- 6 Baird JK, Trevor RJ, Danudirgo EW, Annis BA, Bangs MJ, Punormo HB, Masbar S (1991) Age-dependent acquired protection against *Plasmodium falciparum* in people having two years exposure to hyperendemic malaria. *Am J Trop Med Hyg* 45, 65-76
- 7 Basset MT, Taylor P, Bvirakare J, Chiteka F, Govere E (1991) Clinical diagnosis of malaria: can we improve? *J Trop Med Hyg* 94, 65-69
- 8 Bate CAW, Taverne J, Davé A, Playfair JHL (1990) Malaria exoantigens induce T-independent antibody that blocks their ability to induce TNF. *Immunology* 70, 315-320
- 9 Bate CAW, Taverne J, Roman E, Moreno C, Playfair JHL (1992) Tumour necrosis factor induction by malaria exoantigens depends upon phospholipid. *Immunology* 75, 129-135
- 10 Billewicz WZ, McGregor IA (1981) The demography of two West African

- (Gambian) villages. *J Biosoc Sci* 13, 219-240
- 11 Bruce-Chwatt LJ (1952) Malaria in African infants and children in Southern Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol* 46, 173-200
  - 12 Bruce-Chwatt LJ (1963) A longitudinal survey of natural malaria infection in a group of west African adults. *West Afr Med J* 12, 141-173 ; 199-217
  - 13 Carne B, Plassart H, Senga P, Nzingoula S (1994) Cerebral malaria in African children : socioeconomic risk factors in Brazzaville, Congo. *Am J Trop Med Hyg* 50, 131-136
  - 14 Carne B, Yombi B, Bouquety JC, Plassard H, Nzingoula S, Senga J, Akani I (1992) Child morbidity and mortality due to cerebral malaria in Brazzaville, Congo. A retrospective and prospective hospital-based study 1983-1989. *Trop Med Parasitol* 43, 173-176
  - 15 Conway DJ, McBride JSM (1991) Population genetics of *Plasmodium falciparum* within a malaria hyperendemic area. *Parasitology* 103, 7-16
  - 16 Conway DJ, Greenwood BM, McBride JSM (1991) The epidemiology of multiple-clone *Plasmodium falciparum* infections in Gambian patients. *Parasitology* 103, 1-6
  - 17 Cox MJ, Kum DE, Tavul L *et al* (1994) Dynamics of malaria parasitaemia associated with febrile illness in children from a rural area of Madang, Papua New Guinea. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 88, 191-197
  - 18 Daubersies P, Sallenave-Sales S, Magne S *et al* (1994) PCR characterisation of isolates from various endemic areas : diversity and turn-over of *Plasmodium falciparum* populations are correlated with transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz* (sous presse)
  - 19 Delacollette C, Van der Stuyff P, Molima K, Delacollette-Lebrun C, Werry M (1989) Étude de la mortalité globale et de la mortalité liée au paludisme dans le Kivu montagneux, Zaïre. *Rev Epidem Santé Publ* 37, 161-166
  - 20 Digne N, Rogier C, Cisse B, Trape JF (1994) Incidence of clinical malaria in pregnant women exposed to intense perennial transmission (soumis pour publication)
  - 21 Earle WC, Perez M, Del Rio J, Arzola C (1939) Observations on the course of naturally acquired malaria in Puerto Rico. *Puerto Rico J Pub Health Trop Med* 14, 391-406
  - 22 Giglioli G (1972) Changes in the pattern of mortality following the eradication of hyperendemic malaria from a highly susceptible community. *Bull WHO* 46, 181-202
  - 23 Greenberg AE, Ntumbanzondo M, Ntula N, Mawa L, Howell J, Davichi F (1989) Hospital-based surveillance of malaria-related paediatric morbidity and mortality in Kinshasa, Zaïre. *Bull WHO* 67, 189-196
  - 24 Greenwood BM (1987) Asymptomatic malaria infections. Do they matter ? *Parasitol Today* 3, 206-214
  - 25 Greenwood BM, Armstrong JRM (1991) Comparison of two simple methods for determining malaria parasite density. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 85, 186-188
  - 26 Greenwood BM, Bradley AK, Greenwood AM *et al* (1987) Mortality and morbidity from malaria among children in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 81, 478-486
  - 27 Greenwood BM, Marsh K, Snow R (1991) Why do some African children develop severe malaria ? *Parasitol Today* 7, 277-281
  - 28 Guanzirulli A, Bottius E, Trape JF, Rogier C, Konate L, Druilhe P (1994) High prevalence of very low grade *P falciparum* malaria in endemic areas detectable by PCR amplification (soumis pour publication)
  - 29 Gupta S, Hill AVS, Kwiatkowski D, Greenwood AM, Greenwood BM, Day KP (1994) Parasite virulence and disease patterns in *Plasmodium falciparum* malaria. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 3715-3719
  - 30 Hill AVS, Allsopp CEM, Kwiatkowski D *et al* (1991) Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* 352, 595-600
  - 31 Hill AVS, Elvin J, Willis AC *et al* (1992) Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature* 360, 434-439
  - 32 Karunaweera ND, Grau GE, Gamage P, Carter R, Mendis K (1992) Dynamics of fever and serum TNF levels are closely associated during clinical paroxysms in *Plasmodium vivax* malaria. *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 3200-3203
  - 33 Kemp DJ, Cowman AF, Walliker D (1990) Genetic diversity in *Plasmodium falciparum*. *Adv Parasitol* 29, 75-147
  - 34 Koram KA, Bennett S, Adiamah JH, Greenwood BM (1994) Socioeconomic determinants are not major risk factors for severe malaria in Gambian children. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* (sous presse)
  - 35 Kwiatkowski D, Cannon JG, Manogue KR, Cerami A, Dinarello CA, Greenwood BM (1989) Tumour necrosis factor production in *falciparum* malaria and its association with schizont rupture. *Clin Exp Immunol* 77, 361-366
  - 36 Kwiatkowski D, Molyneux ME, Stephens S *et al* (1993) Anti-TNF therapy inhibits fever in cerebral malaria. *Quat J Med* 86, 91-98
  - 37 Lefebvre-Zante E, Trape JF, Astagneau P, Legros F, Bouganali H, Salem G (1990) Intérêt et limites des critères épidémiologiques et cliniques dans le diagnostic de paludisme en zone urbaine d'Afrique soudano-sahélienne. *Bull Soc Fr Parasitol* 8 (suppl 2), 784
  - 38 Marsh K, Otoo L, Hayes RJ, Carson DC, Greenwood BM (1989) Antibodies to blood stage antigens of *Plasmodium falciparum* in rural Gambians and their relation to protection against infection. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 83, 293-303
  - 39 Martin SK (1994) The malaria/G6PD hypothesis revisited. *Parasitol Today* 10, 251-252
  - 40 McGregor IA (1984) Epidemiology, malaria and pregnancy. *Am J Trop Med Hyg* 33, 517-525
  - 41 McGuire W, Hill AVS, Allsopp CEM, Greenwood BM, Kwiatkowski D (1994) Variation in the TNF- $\alpha$  promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 371, 508-511
  - 42 Miller LH, Mason SJ, Clyde DF, McGiniss MH (1976) The resistance factor to *Plasmodium vivax* in Blacks. *New Engl J Med* 295, 302-304
  - 43 Miller MJ (1958) Observations on the natural history of malaria in the semi-resistant West African. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 52, 152-168
  - 44 Molineaux L (1985) La lutte contre les maladies parasitaires : le problème du paludisme, notamment en Afrique. In : *La lutte contre la mort* (Vallin J, Lopez A, eds). PUF, Paris, 11-40
  - 45 Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M *et al* (1993) Typologie du paludisme en Afrique. *Cahiers santé* 3, 220-238
  - 46 Ntoumi F, Contamin H, Rogier C, Bonnefoy S, Trape JF, Mercereau-Pujalon O (1994) Age-dependent carriage of multiple *Plasmodium falciparum* MSA-2 alleles in asymptomatic malaria infections. *Am J Trop Med Hyg* (sous presse)
  - 47 Pison G, Langaney A (1985) The level and age pattern of mortality in Bandafassi (Eastern Senegal) : results from a small scale and intensive multi-round survey. *Pop Studies* 11, 1-48
  - 48 Playfair JHL, Taverne J, Bate CAW, De Souza JB (1990) The malaria vaccine : anti-parasite or anti-disease ? *Immunol Today* 11, 25-27
  - 49 Rasheed FN, Bulmer JN, Dunn DT *et al* (1993) Suppressed peripheral and placental blood lymphoproliferative responses in first pregnancies : relevance to malaria. *Am J Trop Med Hyg* 48, 154-160
  - 50 Richard A, Lallemand M, Trape JF, Carnevale P, Mouchet J (1988) Le paludisme dans la région forestière du Mayombe, république populaire du Congo. III. Place du paludisme dans la morbidité générale. *Ann Soc Belge Med Trop* 69, 317-329
  - 51 Ringwald P, Peyron F, Lepers JP *et al* (1993) Parasite virulence factors during *falciparum* malaria : rosetting, cytoadherence and modulation of cytoadherence by cytokines. *Infect Immun* 61, 5198-5204
  - 52 Rogier C, Cisse B, Canque B (1991) Activités du service d'épidémiologie du paludisme. In : *Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar, année 1991*, 61-84
  - 53 Rogier C, Commenges D, Trape JF (1994) Evidence for an age-dependent pyrogenic threshold of malaria parasitemia in individuals continuously exposed to *Plasmodium falciparum* (soumis pour publication)
  - 54 Rougemont A, Breslow N, Brenner E *et al* (1991) Epidemiological basis for clinical diagnosis of childhood malaria in endemic zone in West Africa. *Lancet* 338, 1292-1295
  - 55 Schofield L, Hackett F (1993) Signal transduction in host cells by a glycosylphosphatidylinositol toxin of malaria parasites. *J Exp Med* 177, 145-153
  - 56 Smith T, Armstrong Schellenberg J, Hayes R (1994) Attributable fraction

- estimates and case definitions for malaria in endemic areas. *Stat Med* (sous presse)
- 57 Snow RW, Armstrong JRM, Forster D *et al* (1992) Childhood deaths in Africa : the uses and limitations of verbal autopsies. *Lancet* 340, 351-355
- 58 Snow RW, Lindsay SW, Hayes RJ, Greenwood BM (1988) Permethrin-treated bed nets (mosquito nets) prevent malaria in Gambian children. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 82, 838-842
- 59 Treutiger CJ, Hedlund I, Helmby H *et al* (1992) Rosette formation in *Plasmodium falciparum* isolates and anti-rosette activity of sera from Gambians with cerebral or uncomplicated malaria. *Am J Trop Med Hyg* 46, 503-510
- 60 Todd JE, De Francisco A, O'Dempsey TJD, Greenwood BM (1994) The limitations of verbal autopsy in a malaria-endemic region. *Ann Trop Paediatr* 14, 31-36
- 61 Trape JF (1985) Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 79, 181-184
- 62 Trape JF, Lefebvre-Zante E, Legros F *et al* (1993) Malaria morbidity among children exposed to low seasonal transmission in Dakar, Senegal, and its implications for malaria control in tropical Africa. *Am J Trop Med Hyg* 48, 748-756
- 63 Trape JF, Peelman P, Morault-Peelman B (1985) Criteria for diagnosing clinical malaria among a semi-immune population exposed to intense and perennial transmission. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 79, 435-442
- 64 Trape JF, Quinet MC, Nzingoula S *et al* (1987) Malaria and urbanization in Central Africa : the example of Brazzaville. V. Pernicious attacks and mortality. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 81 (Suppl 2), 34-42
- 65 Trape JF, Rogier C, Konate L *et al* (1994) The Dielmo project : a longitudinal study of natural malaria infection and the mechanisms of protective immunity in a community living in a holoendemic area of Senegal. *Am J Trop Med Hyg* 51, 123-137
- 66 Trape JF, Zoulani A, Quinet MC (1987) Assessment of the incidence and prevalence of clinical malaria in children exposed to intense and perennial transmission. *Am J Epidemiol* 126, 193-201
- 67 Velema JP, Alihonou EM, Chippaux JP, van Boxel Y, Gbedji E, Adegbin R (1991) Malaria morbidity and mortality in children under three years of age on the coast of Benin, West Africa. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 85, 430-435
- 68 World Health Organization (1990) Formes graves et compliquées du paludisme. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 84 (Suppl 2), 1-73