

Point de vue

Epidémiologie du paludisme : axes de recherche prioritaires (entomologie exclue)

Malaria epidemiology : research priorities (entomology excluded)

P. DELORON ⁽¹⁾, P. GAZIN ⁽²⁾, L. ABEL ⁽³⁾, B. LAROUZE ⁽¹⁾

(1) INSERM U13, Hôpital Claude Bernard, 190 Boulevard MacDonald, 75019 Paris. (Tirés à part : B. LAROUZE)

(2) ORSTOM, 213 rue Lafayette, 75010 Paris ;

(3) INSERM U194, CHU Pitié-Salpêtrière, 91 Boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris.

L'étude épidémiologique du paludisme a été longtemps dominée par des travaux entomologiques réalisés dans une optique d'éradication. De nouvelles approches ont été développées récemment grâce à la mise au point de nouveaux outils utilisables au plan épidémiologique et pour répondre à une question perçue désormais comme majeure : quelles attitudes adopter face au paludisme dans des pays aux structures sanitaires inadéquates où l'éradication n'est pas possible, dans un contexte de diffusion des résistances aux médicaments anti-palustres ? De nombreuses études épidémiologiques sur le paludisme ont été essentiellement descriptives. Il est indispensable de développer des travaux épidémiologiques de nature plus analytique dans les domaines, notamment, de l'évaluation des techniques, de l'immuno-épidémiologie et de l'épidémiologie génétique en utilisant l'outil biostatistique. Ces études épidémiologiques doivent nécessairement tenir compte des paramètres entomologiques et, de façon plus générale, des facteurs d'environnement qui ne seront pas détaillés dans cette revue.

LES OUTILS DE L'ÉPIDÉMIOLOGIE

IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DES PARASITES

Compte tenu des contraintes de l'examen en microscopie optique de gouttes épaisses de sang, il est indispensable de continuer à déve-

opper d'autres techniques diagnostiques applicables à l'épidémiologie. Les techniques suivantes ont été récemment proposées mais elles doivent être évaluées en termes, de fiabilité, de coût et de faisabilité en prenant pour référence les tests microscopiques [1] :

— Coloration des noyaux parasitaires à l'acridine orange en tube capillaire (QBC[®], Becton Dickinson) avec détection dans l'ultra-violet.

— Mise en évidence de matériel génomique plasmodial par hybridation avec une sonde ADN, les sondes froides augmentant la faisabilité des tests sur le terrain. Ces sondes sont spécifiques mais ces tests sont moins sensibles que la microscopie. En raison du nombre plus important de copies d'ARNr que d'ADN dans le génome plasmodial, des techniques d'hybridation avec des sondes ARN permettraient, éventuellement, d'accroître la sensibilité.

— Amplification génique par « polymérase chain reaction », technique en principe plus sensible mais plus coûteuse et actuellement plus lourde à réaliser. Des procédures simplifiées faciliteraient son application à l'épidémiologie.

Le développement de ces techniques de biologie moléculaire va de paire avec l'identification de séquences génomiques permettant de caractériser des souches à l'intérieur de l'espèce *P. falciparum* en termes, par exemple, de pathogénicité ou de sensibilité aux médicaments [2].

L'identification de la chimiorésistance repose actuellement sur des tests *in vivo* et *in vitro* se prêtant mal aux études de populations [3]. Il est nécessaire de développer de nouveaux tests *in vitro* utilisables sur un grand nombre d'échantillons, rapides, fiables et éventuellement automatisables, tests qui devront être évalués par comparaison avec les tests classiques. Une première approche repose sur l'existence de différences de métabolisme entre souches sensibles et résistantes à un médicament donné. Ainsi, les souches résistantes à la chloroquine expulsent ce médicament de l'hématie infectée plus rapidement que les souches sensibles; un test mesurant la vitesse de cet efflux a été mis au point pour identifier les souches chloroquinorésistantes [4]. Ce test serait automatisable mais sa spécificité et sa faisabilité en zone d'endémie restent à évaluer. Une seconde approche repose sur l'existence de différences antigéniques ou génomiques entre souches sensibles et résistantes à un médicament (par exemple, une modification du gène codant pour la dihydrofolate réductase, enzyme du métabolisme des folates, a été mise en évidence chez les souches de *P. falciparum* résistantes à la pyriméthamine [5]). L'identification de structures génomiques ou antigéniques propres aux souches résistantes à un antipaludique donné devrait permettre de développer des tests de biologie moléculaire ou d'immunologie permettant l'identification de souches résistantes, tests utilisables dans un cadre épidémiologique.

EXPRESSION CHEZ L'HÔTE DE L'INFECTION PARASITAIRE

Réponse immunitaire

La réponse immunitaire de l'individu infesté module l'expression clinique du paludisme et la réponse thérapeutique. Les mécanismes impliqués semblent avoir un support à la fois humoral et cellulaire. L'épidémiologie peut contribuer à la compréhension de ces phénomènes importants pour le choix des stratégies de développement vaccinal.

La détection des anticorps dirigés contre un antigène plasmodial défini ne pose pas de problème méthodologique. Néanmoins, des tests rapides réalisables sur le terrain seraient utiles,

notamment pour la réalisation d'essais vaccinaux sur des effectifs importants.

L'étude de la réponse cellulaire connaît d'importants développements pour deux raisons principales: d'une part, la reconnaissance récente, à la suite des échecs relatifs des essais de vaccins élaborés pour stimuler la seule production d'anticorps, du rôle de l'immunité cellulaire; d'autre part, la mise en évidence du peu d'intérêt du test de lymphoprolifération, technique sur laquelle la plupart des travaux ont reposé jusqu'à présent. L'étude, à l'échelle des populations, de la réponse des lymphocytes T selon d'autres modes (sécrétion de lymphokines, coopération entre cellules T et B) constitue une priorité. La complexité technique des tests d'immunologie cellulaire rendant difficile leur réalisation dans un cadre épidémiologique, la mise au point de tests simplifiés est fondamentale, notamment pour l'évaluation de la réponse vaccinale.

Aspects cliniques

L'évaluation de l'impact du paludisme et des mesures de contrôle repose *in fine* sur la mesure de la morbidité et de la mortalité. Les différents stades de gravité de la maladie palustre sont définis selon des critères établis par l'OMS [3] mais ce cadre nosologique est mal adapté aux études épidémiologiques. De nombreux travaux ont porté sur la définition de l'accès palustre en fonction de données cliniques et d'un seuil de parasitémie variable avec l'âge et la région d'endémie. Leur pertinence et leur validité restent à démontrer. La mesure de la mortalité liée au paludisme relève de techniques démographiques difficiles à mettre en œuvre. Des indicateurs standardisés restent à définir.

DOSAGE DES MÉDICAMENTS ANTIPALUDIQUES

Tout particulièrement pour l'étude de la chimiorésistance, il est important de savoir si un sujet donné a consommé récemment des antipaludéens. L'interrogatoire n'étant pas toujours fiable, il est nécessaire de recourir au dosage des médicaments. La technique de référence, la chromatographie liquide à haute pression (CLHP), est difficilement transposable en zone

d'endémie et devrait avant tout servir à l'évaluation d'autres techniques plus simples. Les techniques colorimétriques urinaires qui concernent essentiellement les 4-aminoquinoléines sont nombreuses et de spécificité inégale. De même, des techniques immunologiques utilisant des anticorps dirigés contre les 4-aminoquinoléines permettent des dosages urinaires ou plasmatiques [3]. Une évaluation précise de ces techniques et leur mise au point pour d'autres antipaludiques que les 4-aminoquinoléines sont indispensables.

SURVEILLANCE DU PALUDISME

La surveillance du paludisme n'est pas en elle-même une activité de recherche; elle devrait relever des services de santé. Un domaine particulier est la prévention du paludisme transfusionnel dans les régions où le risque de transmission à des individus non immuns est important. Ceci implique l'évaluation, dans le contexte des banques de sang, d'outils diagnostiques adaptés.

Les travaux sur la chimio-résistance de *P. falciparum* ont été essentiellement centrés sur l'identification de cas de résistance chez des voyageurs ou réalisés lors d'études concernant des dispensaires, des écoles... La plupart de ces études sont ponctuelles et la représentativité des souches étudiées est discutable. La mise au point de tests de chimio-résistance *in vitro* mieux adaptés aux études épidémiologiques devrait permettre une évaluation plus rigoureuse de la situation à partir d'un véritable échantillonnage. Cette démarche permettrait une meilleure connaissance des mécanismes épidémiologiques de diffusion de la résistance.

RECHERCHE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

IMMUNO-ÉPIDÉMIOLOGIE

La séro-épidémiologie traditionnelle (antigène plasmodial brut) n'a plus de place dans un contexte de recherche épidémiologique. Par contre, l'étude des réponses immunitaires dirigées contre des antigènes définis du parasite est indispensable tant pour évaluer l'intérêt po-

tentiel de molécules vaccinales que pour juger de l'impact de stratégies d'interventions [6].

Des études transversales dans des conditions naturelles de transmission permettent une évaluation préliminaire de la réponse à des protéines susceptibles d'être intégrées à un vaccin. Pour tester les hypothèses résultant de ces études transversales et des travaux expérimentaux, des études de cohorte sont nécessaires dans un deuxième temps. Elles permettent, sur des données cliniques et parasitologiques, d'évaluer la protection de l'hôte en confrontant ces données aux réponses humorales et/ou cellulaires spécifiques. L'exposition à *P. falciparum* doit être prise en compte, tout particulièrement pour les études portant sur l'existence d'une immunité anti-gamétocytes qui constitue un nouveau domaine de recherche.

Des études de cohortes doivent être consacrées à des populations dont la réponse immunitaire est particulière (immunodépression liée à la grossesse, immunité en développement chez le nourrisson). Chez la femme enceinte, la morbidité par paludisme est augmentée et l'infection placentaire éventuelle retentit sur le nouveau né (petit poids de naissance associé à une mortalité accrue) [7]. L'étude des modifications du statut immunitaire en cours de grossesse permettrait de déterminer les facteurs de risque de l'infection placentaire et des atteintes néonatales.

RELATIONS ENTRE PALUDISME ET AUTRES PATHOLOGIES

Les travaux passés sur les relations entre paludisme et autres pathologies majeures (malnutrition, carence martiale, anémie...) sont difficiles à interpréter étant donné leur caractère ponctuel, la non-représentativité des échantillons étudiés et le fait que les facteurs de confusion potentiels ne sont pas toujours pris en compte. Ils doivent être repris sur des bases méthodologiques plus solides. Les travaux passés sur les relations éventuelles entre paludisme et carcinogénèse n'ont pas donné de résultats probants. Les critères d'indication des transfusions sanguines dans le cadre du paludisme sont à mieux définir compte tenu de la fréquence de l'anémie et du risque de transmission du VIH dans les zones où cette infection est

fréquente [8] même si le dépistage sérologique de cette infection est systématique chez les donneurs de sang.

EPIDÉMIOLOGIE GÉNÉTIQUE DU PALUDISME

Chez l'animal, le rôle de facteurs génétiques dans la réponse à l'infection par *Plasmodium* est bien établi. (les rôles du système majeur d'histocompatibilité et d'un gène unique distinct de ce système ont été mis en évidence). Cette hétérogénéité génétique est l'un des obstacles à la réalisation d'un vaccin efficace [9]. Une meilleure compréhension des mécanismes génétiques intervenant dans la réponse à l'infection palustre devrait donc améliorer les moyens de lutte contre cette maladie.

Chez l'homme, les moyens utilisables pour mettre en évidence l'intervention de facteurs génétiques dans des pathologies multifactorielles, comme les maladies infectieuses, sont initialement des méthodes statistiques, essentiellement l'analyse de ségrégation et l'analyse de linkage. Ainsi, une analyse de ségrégation a récemment montré l'existence d'un gène majeur contrôlant l'intensité de l'infection par *Schistosoma mansoni* [10]. Si un gène majeur est identifié, l'analyse de linkage permet alors de le localiser sur le chromosome en étudiant, dans les familles, sa transmission conjointe avec des marqueurs génétiques. Ces méthodes doivent être utilisées pour identifier les facteurs génétiques impliqués dans le contrôle de la susceptibilité/résistance au paludisme chez l'homme. L'étude du contrôle génétique de la réponse à certains peptides potentiellement vaccinaux est également prioritaire.

Certaines affections génétiques du globule rouge (drépanocytose, β -thalassémie, déficit en G6PD) augmentent la résistance à l'infection palustre. Bien que ces affections soient responsables de phénomènes de sélection importants au niveau des populations, leur rôle au niveau de l'individu semble assez faible. Une association au niveau des populations a également été suggérée entre certains antigènes du système HLA et la réponse à l'infection parasitaire [11]. L'analyse de linkage doit établir s'il existe une liaison entre le gène contrôlant le phénotype étudié et ces différents marqueurs génétiques du globule rouge et du système

HLA. En l'absence de liaison, d'autres marqueurs (polymorphismes génétiques de l'ADN) pourront être étudiés en utilisant notamment certaines analogies avec les résultats observés dans les modèles animaux comme cela est fait pour la lèpre.

Ces études d'épidémiologie génétique pourraient avoir des implications très importantes dans la lutte contre le paludisme. Elles permettront une meilleure compréhension des mécanismes intervenant dans la susceptibilité/résistance à l'infection parasitaire. Elles pourront souligner la nécessité de prendre en compte cette hétérogénéité génétique dans le développement et l'évaluation des programmes de contrôle de la maladie. Enfin, elles contribueront au développement de nouvelles stratégies vaccinales.

EPIDÉMIOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

Traitements curatifs

Au plan de la méthodologie des essais thérapeutiques, l'étude des antipaludiques ne pose pas de problème spécifique. En fait, l'analyse des études publiées révèle souvent des carences qui concernent, selon les cas, le choix des régimes thérapeutiques, les critères d'inclusion des sujets, le calcul du nombre de sujets nécessaire ou les critères de jugement de l'efficacité (parasitologiques et/ou cliniques).

Pour plusieurs médicaments, les choix thérapeutiques ne reposent pas sur des bases rationnelles ce qui implique des essais thérapeutiques et des études pharmacologiques. Ces études doivent tenir compte des objectifs assignés au traitement. De façon générale, dans une optique pragmatique, l'objectif premier est de faire disparaître les manifestations cliniques et non les parasitémiées. Dans les accès graves, la rapidité d'action est une priorité. Par ailleurs, l'amélioration des études de pharmacovigilance éviterait que la toxicité de certains médicaments ne soit découverte qu'après plusieurs années d'utilisation. Les choix thérapeutiques dans une région donnée impliquent également l'évaluation du rapport coût/efficacité des traitements en fonction des niveaux de résistance. Cet outil décisionnel per-

mettrait de préconiser des traitements de 1^{re} et de 2^e intention [12].

Traitements prophylactiques

Ces choix prophylactiques sont fréquemment empiriques. En ce qui concerne la prophylaxie chez le voyageur ou l'expatrié, l'objectif est une protection prévenant toute parasitémie. Ces choix prophylactiques doivent permettre une protection « à tout prix ». L'évaluation des régimes prophylactiques en termes d'efficacité et d'effet secondaire chez ce type de sujet constitue un objectif important [13]. La faisabilité d'études systématiques portant sur les personnes utilisant les transports aériens, études réalisées aux USA et en Suisse, semble faible dans le contexte français.

L'utilité d'une prophylaxie chez la femme enceinte, le nourrisson et le jeune enfant en zone d'endémie est controversée. Là encore, des essais méthodologiquement rigoureux sont nécessaires.

Evaluation des comportements thérapeutiques

Indispensable pour préconiser des attitudes pragmatiques, l'étude des comportements thérapeutiques doit porter sur les individus, les thérapeutes (personnel médical et thérapeutes traditionnels) et les décideurs de santé. Ces comportements comprennent les attitudes visant à éviter la maladie, les recours et itinéraires thérapeutiques et les circuits de distribution des médicaments. Les enquêtes de type *Connaissances, Attitudes et Pratiques* sont très réductrices et une approche socio-anthropologique serait utile [12].

EVALUATION DES MESURES PROPHYLACTIQUES

La lutte antivectorielle généralisée visant à l'éradication du paludisme a été abandonnée, sauf cas particuliers. Des études concernant la protection individuelle sont en cours (moustiquaires imprégnées). L'efficacité des mesures d'intervention est évaluée en comparant, toutes choses égales par ailleurs, des groupes d'individus *protégés* et des groupes *non protégés*. Compte tenu du rôle de la prémunition dans la protection, l'exposition au parasite peut être par certains aspects considérée comme bénéfique.

Il est donc fondamental que l'évaluation de l'efficacité ne se limite pas à l'étude des indices parasitaires ou sérologiques mais porte également sur la morbidité et la mortalité liées au paludisme. Il serait intéressant d'étudier conjointement l'évolution de l'immunité, ce type de prophylaxie constituant un modèle quasi-expérimental.

Les difficultés rencontrées pour interpréter les résultats de certains essais vaccinaux récents en Amérique du Sud soulignent la nécessité d'une stratégie d'évaluation rigoureuse. Sa mise en place implique la connaissance préalable de l'épidémiologie locale du paludisme. Une première évaluation devrait porter, dans la région considérée, sur la réponse des sujets aux antigènes vaccinaux. Le choix des paramètres immunologiques étudiés, l'âge et la représentativité des sujets sont des éléments fondamentaux. L'essai vaccinal lui-même implique la sélection d'une population adéquate (stabilité, acceptation des contraintes). L'âge des sujets, le tirage au sort du groupe à vacciner et du groupe témoin, les effectifs nécessaires, la prise en charge des cas cliniques, la durée de la période d'observation et les critères de jugement (parasitologiques, cliniques, immunologiques) constituent autant de problèmes complexes sans compter les problèmes éthiques et de faisabilité. La mise en œuvre d'une vaccination sur des effectifs de population importants suppose le choix de critères d'efficacité simplifiés. Au total, ces perspectives vaccinales impliquent une réflexion globale allant des aspects logistiques des essais à la mise au point de critères de jugement utilisables en pratique aux différents stades des études. Le choix des antigènes vaccinaux constitue évidemment un choix premier devant prendre en compte l'expression antigénique des souches dans la région considérée et le déterminisme génétique de la réponse vaccinale. Une approche pluridisciplinaire est indispensable.

CONCLUSION

Il est clair que se développe actuellement une épidémiologie du paludisme moins compilatoire qui, par sa rigueur méthodologique, pourrait contribuer effectivement à l'évaluation

des tests diagnostiques et immunologiques, à la connaissance des mécanismes d'émergence et d'extension de la chimiorésistance, à l'élucidation des processus immunitaires, à l'évaluation de nouvelles thérapeutiques et prophylaxies, à l'identification de facteurs génétiques qui pourraient jouer un rôle dans chacun de ces domaines... Le fait que ces études portent sur des populations constitue un moyen efficace de tester les hypothèses formulées à partir de données expérimentales et de données parcellaires relevant de l'observation clinique ou de la surveillance épidémiologique.

RÉFÉRENCES

1. World Health Organization: Malaria diagnosis: Memorandum from a WHO meeting. *Bull Wld Hlth Org*, 1988, 66, 575-594.
2. Wellem's T.E.; Molecular genetics of drug resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *Parasitol. Today*, 1991, 7, 110-112.
3. World Health Organization: *Practical chemotherapy of malaria*. Technical report series 805. World Health Organization, Geneva, 1990.
4. Gluzman I.Y., Krogstad D.J., Orjih A.U. *et al.*: A rapid in vitro test for chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1990, 42, 521-526.
5. Peterson D.S., Milhous W.K., Wellem's T.E.: Molecular basis of differential resistance to cycloguanil and pyrimethamine in *Plasmodium falciparum* malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 3018-3022.
6. Chougnnet C., Fievet N., Astagneau P., *et al.*: Human in vitro cellular responses to the *Plasmodium falciparum* antigen Pf155/RESA: Epidemiological aspects. *Bull. Inst. Pasteur*, in press.
7. Brabin B.J.: *The risks and severity of malaria in pregnant women*. Applied field research in malaria reports N° 1. World Health Organization, Geneva, 1991.
8. Greenberg A.E., Nguyen-Dinh P., Mann J.M. *et al.*: The associations between malaria, blood transfusions, and HIV seropositivity in a pediatric population in Kinshasa, Zaire. *J.A.M.A.*, 1988, 259, 545-549.
9. Weiss W.R., Good M.F., Hollingdale M.R., *et al.*: Genetic control of immunity to *Plasmodium yoelii* sporozoites. *J. Immunol.*, 1989, 143, 4263-4266.
10. Abel L., Demenais F., Prata A., *et al.*: Evidence for the segregation of a major gene controlling human susceptibility/resistance to infection by *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Hum. Genet.*, 1991, 48, 959-970.
11. Hill A.V.S., Allsopp C.E.M., Kwiatkowski D., *et al.*: Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature*, 1991, 352, 595-600.
12. Breman J.G., Campbell C.C.: Combating severe malaria in African children. *Bull Wld Hlth Org.*, 1988, 66, 611-620.
13. Steffen R., Behrens R.H.: Travellers' malaria. *Parasitol. Today*, 1992, 8, 61-66.