

## ACQUISITION DE L'IMMUNITE EN ZONE D'ENDEMIIE PALUSTRE (SAVANE SOUDANO-SAHELIIENNE)

par

M. COT<sup>1</sup>, M. BOUSSINESQ<sup>1</sup>, P. GAZIN<sup>1</sup>, D. BAUDON<sup>2</sup>, & P. CARNEVALE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz, B.P. 171, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

<sup>2</sup>Centre Muraz, Section Biologie, B.P. 153, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

**Résumé.** — Les prélèvements effectués au cours d'une enquête menée au Niger en 1982 chez 500 enfants de moins de 10 ans ont permis d'établir certaines liaisons statistiques entre âge, densités parasitaires lors d'infection par le *Plasmodium*, et taux d'anticorps circulants antischizontes.

Il en ressort que, dans le contexte épidémiologique étudié, 3 types de comportements sérologiques doivent être distingués en fonction de l'âge.

En-dessous de un an, les enfants, dans leur grande majorité, ne présentent ni parasitémie ni anticorps décelables; entre un an et 5 ans, les premières infestations s'accompagnent de l'apparition d'anticorps sériques; à partir de 5 ans, l'acquisition d'une protection au moins partielle se traduit par une dissociation entre parasitémies (qui s'annulent ou correspondent à des charges parasitaires moindres) et anticorps circulants dont les taux augmentent.

---

KEYWORDS: Malaria, Immunity; *Plasmodium*; Parasitaemia; Niger

---

A l'occasion d'une enquête épidémiologique de type transversal menée en décembre 1982 dans le village d'Ayorou (Niger), dont l'étude parasitologique et entomologique a été réalisée précédemment (2) nous avons constaté chez les enfants prélevés des liaisons entre âges, parasitémies et taux d'anticorps sériques qui nous ont conduit à entreprendre une analyse approfondie des résultats.

### Zone d'étude

Le village d'Ayorou se situe dans la province de Tillabéri (nord-ouest de la République du Niger), en zone de savane soudano-sahélienne. Il est situé directement en bordure du fleuve dont le débit est très variable en fonction de la saison. La saison des pluies s'étend de juin à septembre, la saison sèche d'octobre à mai (moyenne annuelle des précipitations 500 mm).

L'enquête réalisée à Ayorou et 13 autres villages de la région (2) avait montré, au 3<sup>ème</sup> mois de la saison sèche, dans la tranche d'âge 0-9 ans, un indice splénique de 18,2% (variation de 10 à 37,5% selon les villages) et un indice plasmodique de 31,2% (variation de 18,8% à 50%). Les densités anophéliennes (essentiellement *A. gambiae*) étaient relativement importantes (plus de 10 femelles par maison en moyenne, indice sporozoïtique de 1,4%) montrant un maintien de la transmission plus de deux mois après le début de la saison sèche.

25

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 26.262 ex 1

Cote : B M

14 AVR. 1989

## Matériel et méthodes

Tous les enfants du village âgés de moins de 10 ans (soit 500 sujets au total) ont subi un prélèvement de sang au bout du doigt (recueil sur capillaire hépariné), ce qui nous a permis de déterminer pour chacun d'entre eux :

- La présence et le nombre de *Plasmodium* dans le sang périphérique (frottis — goutte(s) épaisse(s) colorés au Giemsa et examinés au microscope — objectif à immersion; grossissement  $\times 100$ ).
- Le titre des anticorps sériques antiplasmodiaux dirigés contre les stades asexués du parasite (immunofluorescence indirecte, laboratoire du Pr Ambroise-Thomas, Grenoble).
- Le génotype hémoglobinique (électrophorèse sur acétate de cellulose en pH alcalin, laboratoire Helena).

Les principales hémoglobinopathies, dans ce village, se répartissaient en 78,3 % de génotypes AA, 13,5 % d'hétérozygotes AS, et 8,2 % d'hétérozygotes AC. Il n'a pas été mis en évidence de différence dans les charges parasitaires en fonction du génotype hémoglobinique (tableau 1).

TABLEAU 1  
Répartition des charges parasitaires chez les enfants de 1 à 9 ans  
en fonction du génotype hémoglobinique

Charge parasitaire	Génotype hémoglobinique AA	AS	AC
Négatif	251 (69,7 %)	45 (72,6 %)	26 (68,4 %)
1-10.000 par./ul	54 (15 %)	12 (19,4 %)	8 (21 %)
10.000 par./ul	55 (15,3 %)	5 (8 %)	4 (10,6 %)
Total	360	62	38

$$\chi^2 \cdot 4 \text{ ddl} = 3,64 \text{ (NS)}$$

\* Correction de Yates pour petits effectifs.

L'analyse des liaisons entre infestation plasmodiale, présence d'anticorps et âge a été d'abord qualitative et nous a permis de définir des classes d'âges en fonction du statut immunologique et parasitologique des enfants. Le deuxième temps de l'analyse a porté sur des variables quantitatives et nous a permis de discuter nos hypothèses sur la dynamique de l'infection et l'acquisition de l'immunité.

Afin de simplifier les calculs, nous avons fait subir aux variables titre d'anticorps et charge parasitaire une transformation logarithmique selon les techniques habituelles: simple transformation en logarithme décimal pour les charges parasitaires, transformation selon la formule: taux géométrique moyen TGM =  $[\log_2 \left( \frac{\text{titre}}{80} \right) + 1]$ , pour les taux d'anticorps.

## Résultats

### Définition de classes d'âges «stratégiques»

La première étape de notre analyse a consisté à classer les sujets en fonction de la présence de *Plasmodium* dans le sang d'une part, et de la négativité de leurs sérologies d'autre part, ce qui nous a permis de définir 4 groupes :

- Sujets n'ayant ni parasites ni anticorps décelables (notés « $P \ominus I \ominus$ »)
- Sujets parasités avec sérologie négative (« $P \oplus I \ominus$ »)
- Sujets parasités avec sérologie positive (« $P \oplus I \oplus$ »)
- Sujets non parasités avec sérologie positive (« $P \ominus I \oplus$ »)

Nous avons calculé, pour chaque année d'âge en années révolues, la proportion des sujets appartenant à chacun des 4 groupes puis, pour chacun des groupes, nous avons construit un histogramme reprenant l'ensemble de ces pourcentages en fonction de l'âge (fig. 1) (à l'exclusion des sujets  $P \oplus I \ominus$  dont le faible effectif n'autorise pas une telle représentation).

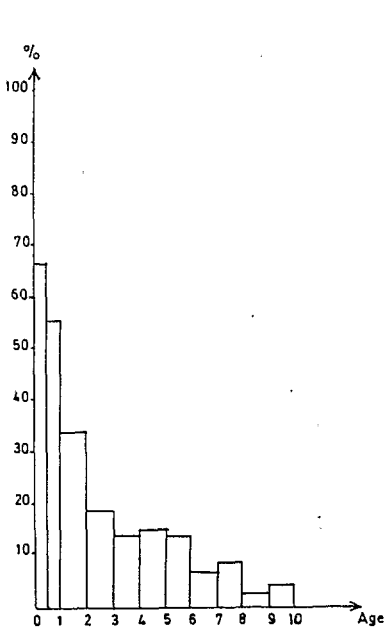


Figure 1a.

Proportion des sujets ne présentant ni parasitémie périphérique, ni anticorps antiplasmodiaux ( $P \ominus I \ominus$ ), par tranche d'âge de 1 an (N = 97)

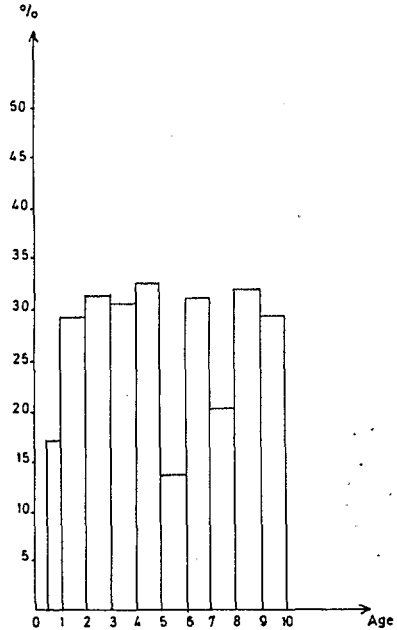


Figure 1b.

Proportion des sujets ayant une parasitémie périphérique et des anticorps antiplasmodiaux ( $P \oplus I \oplus$ ), par tranche d'âge de 1 an (N = 130)

- Sujets  $P \ominus I \ominus$  (fig. 1a)

A l'examen de l'histogramme, on constate une diminution assez nette du pourcentage de ces individus à partir de l'âge de 1 an; par la suite, cette proportion continue à diminuer en s'amortissant progressivement.

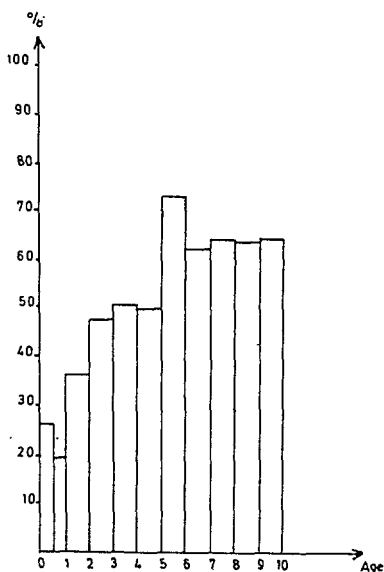


Figure 1c.  
Proportion des sujets sans parasitémie périphérique, présentant des anticorps antiplasmodiaux ( $P \ominus I \oplus$ ), par tranche d'âge de 1 an ( $N = 257$ )

La différence entre les groupes d'âges «0-11 mois» et «1-9 ans» est objectivée par le calcul statistique ( $X_1^2 = 94,7$ ,  $p < 0,001$ , différence hautement significative) (tableau 2a).

— Sujets  $P \oplus I \oplus$  (fig. 1b)

Ces individus, totalement absents pendant le premier semestre, apparaissent dès le 2<sup>ème</sup> semestre de vie; on constate une augmentation importante à partir de l'âge de un an; la proportion de ces sujets reste relativement stable par la suite.

Ici encore, les calculs confirment l'individualisation du groupe «0-11 mois» ( $X_1^2 = 80,58$ ;  $p < 0,001$ ; différence hautement significative) (tableau 2b); aucune différence n'apparaît entre les groupes d'âges plus élevés ( $X_8^2 = 5,15$ ; non significatif).

— Sujets  $P \ominus I \oplus$  (fig. 1c)

Cette classe regroupe un effectif relativement faible avant l'âge de onze mois; elle connaît une première progression entre un an et 4 ans; à partir de 5 ans, le pourcentage augmente et atteint un palier.

La différence est nette entre les trois groupes ainsi mis en évidence (0-11 mois, 1 an-4 ans, 5 ans-9 ans): ( $X_2^2 = 123,52$ ;  $p < 0,001$ , différence hautement significative) (tableau 2c).

— Sujets  $P \oplus I \ominus$

En raison de la faiblesse des effectifs dans les classes d'âges 1 an-4 ans (5 sujets sur 188 soit 2,7%) et 5 ans-9 ans (5 sujets sur 235 soit 2,1%), il est difficile de conclure quant à une quelconque différence entre ces deux groupes. On remarquera toutefois que la classe d'âge 0-11 mois semble encore une fois se comporter de manière indépendante (6 sujets sur 77 soit 7,8%: ( $X_1^2 = 6,22$ ,  $p < 0,02$ ; différence significative) (tableau 2d).

TABLEAU 2  
Répartition des sujets en fonction de leur parasitémie et de l'existence d'anticorps antiplasmodiaux dans les différents groupes d'âges — tests statistiques

	0-11 mois	> 12 mois	
Parasitémie négative — absence d'anticorps	46 (58,7 %)	51 (12,1 %)	
Autres	31	372	
$X_1^2 = 94,7$ $p < 0,001$ A			
	0-11 mois	> 12 mois	
Parasitémie positive — présence d'anticorps	8 (10,4 %)	12 (38,3 %)	
Autres	69	301	
$X_1^2 = 80,58$ $p < 0,001$ B			
	0-11 mois	12 mois - 4 ans	> 5 ans
Parasitémie négative — présence d'anticorps	17 (22,1 %)	88 (46,8 %)	152 (64,7 %)
Autres	60	100	83
$X_2^2 = 123,52$ $p < 0,001$ C			
	0-11 mois	> 12 mois	
Parasitémie positive — absence d'anticorps	6 (7,8 %)	10 (2,4 %)	
Autres	71	413	
$X_1^2 = 6,22$ $p < 0,02$ D			

Les résultats précédents font apparaître 3 classes d'âges (0-11 mois, 1 an-4 ans, 5 ans-9 ans) de comportements différents vis-à-vis de l'infestation par le parasite et de la présence d'anticorps sériques (tableau 3).

TABLEAU 3  
Répartition des sujets en fonction de la présence ou de l'absence d'anticorps et de parasites dans leur sang périphérique, et de leur âge

	P ⊖ I ⊖	P ⊕ I ⊕	P ⊖ I ⊕	P ⊕ I ⊖
0-11 mois	46 (47,4 %)	8 (6,2 %)	17 (6,6 %)	6 (37,6 %)
12 mois - 4 ans	37 (38,1 %)	58 (44,6 %)	88 (34,2 %)	5 (31,4 %)
> 5 ans	14 (14,5 %)	64 (49,2 %)	152 (59,2 %)	5 (31,4 %)
Total	97	130	257	16

$$X^2 \text{ 6 ddf} = 123,35 \quad p < 0,001.$$

Nous avons essayé de confirmer et de préciser cette tendance par l'étude, chez les sujets positifs, des 2 variables quantitatives: charge parasitaire individuelle et titre d'anticorps.

## Etude des charges parasitaires et des taux d'anticorps

### — Taux d'anticorps

Nous avons représenté sur la figure 2 les variations des moyennes géométriques des taux d'anticorps en fonction de la classe d'âge dans le groupe des sujets  $P \ominus I \oplus$  d'une part, et  $P \oplus I \oplus$  d'autre part.

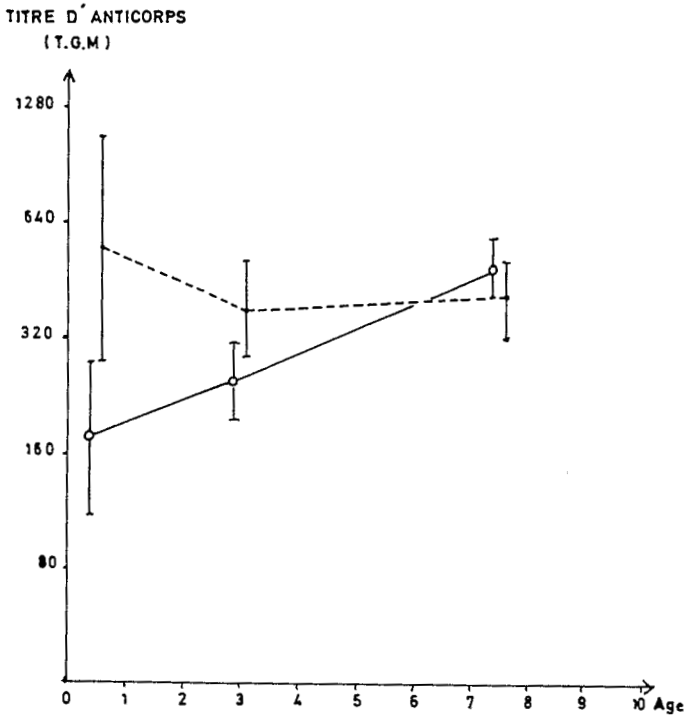


Figure 2.

Evolution de la moyenne géométrique des titres d'anticorps (TGM) en fonction de l'âge.

— — — sujets présentant une parasitémie périphérique et des anticorps antiplasmodiaux ( $P \oplus I \oplus$ ).

o — o sujets sans parasitémie périphérique, présentant des anticorps antiplasmodiaux ( $P \ominus I \oplus$ )

Chez les enfants  $P \ominus I \oplus$ , on constate une augmentation nette des moyennes des titres d'anticorps avec l'âge (soit des valeurs de 173,9 pour les 0-11 mois; 244,2 pour les 1 an-4 ans; 488 pour les 5 ans-9 ans;  $F_{254}^2 = 15,41$ ;  $p < 0,001$ ; différence hautement significative); en revanche, aucune différence significative n'apparaît chez les sujets  $P \oplus I \oplus$  entre les 3 groupes d'âges (538,1 pour les 0-11 mois; 377,9 pour les 1 an-4 ans; 402,2 pour les 5 ans-9 ans).

### — Charges parasitaires

Le faible effectif atteint par les individus  $P \oplus I \ominus$  n'autorise pas (en l'absence de normalité de la distribution des charges parasitaires) le traitement statistique par les méthodes paramétriques; en revanche, les moyennes des sujets  $P \oplus I \oplus$ , beaucoup plus nombreux, suivent une loi normale, ce qui permet d'effectuer les tests paramétriques classiques.

On constate dans le groupe ( $P \oplus I \oplus$ ) une décroissance régulière des charges parasitaires moyennes qui passent de 26 900 globules rouges parasités/mm<sup>3</sup> de sang pour le groupe d'âge 0-11 mois, à 10 000 pour les 1 an-4 ans, et à 2 300 pour les 5 ans-9 ans ( $F_{127}^2 = 4,77$ ;  $p < 0,01$ ; différence très significative) (fig. 3).

NOMBRE DE PARASITES / mm<sup>3</sup> de Sang

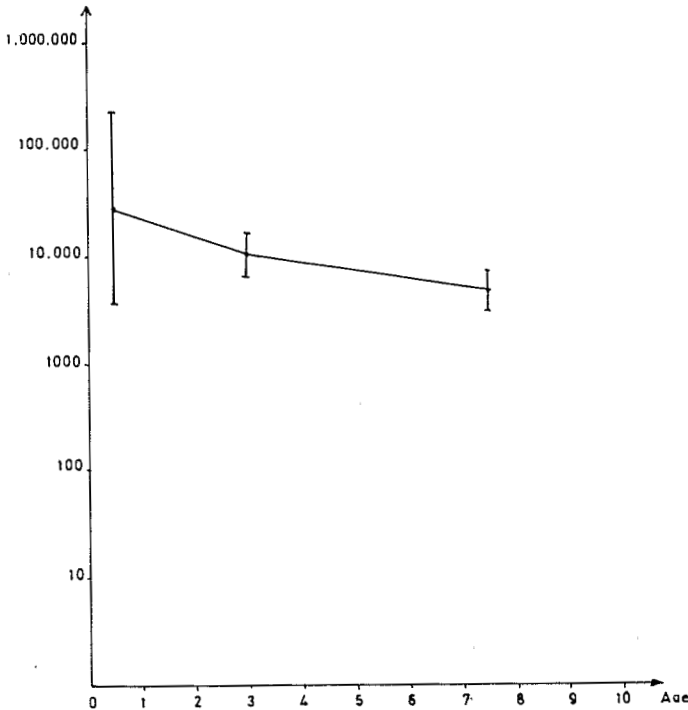


Figure 3.

Evolution de la moyenne des charges parasitaires en fonction de l'âge chez les sujets présentant une parasitémie périphérique et des anticorps antiplasmodiaux ( $P \oplus I \oplus$ ).

#### — Liaison entre âge, parasitémie et taux d'anticorps

Il existe une liaison positive entre âge et sérologie chez les sujets présentant des anticorps ( $r = 0,1987$  soit  $t = 3,98$ ;  $p < 0,001$ ; 385 ddl liaison hautement significative) et une liaison négative entre âge et charge parasitaire chez les sujets infestés ( $r = -0,13$  soit  $t = 2,19$ ;  $p < 0,05$ ; 167 ddl liaison significative).

Pour reprendre la distinction faite précédemment, il nous a paru intéressant de préciser la liaison entre taux d'anticorps et parasitémie à l'intérieur de chacune des 3 classes d'âges définies dans le dernier paragraphe (0-11 mois, 1 an-4 ans, 5 ans-9 ans); à cet effet nous avons calculé les coefficients de corrélation unissant ces 2 variables.

Chez les enfants de moins de un an, il existe une très forte liaison positive ( $r = 0,36$  pour 75 ddl;  $p < 0,01$ ; liaison très significative), de même que chez

les sujets âgés de 1 à 5 ans ( $r = 0,19$  soit  $t = 3,49$ ; 185 ddl  $p < 0,001$ ; liaison hautement significative); la tendance semble s'inverser à partir de 5 ans ( $r = -0,07$  soit  $t = 1,11$ ; 233 ddl liaison non significative) (tableau 4).

TABLEAU 4  
Liaisons statistiques entre les variables âge, sérologie, et charge parasitaire

Liaison âge-sérologie		$r = 0,199$ (385 ddl)	LP ***
Liaison âge-charge parasitaire		$r = -0,13$ (167 ddl)	LN *
	0-11 mois	$r = 0,36$ (75 ddl)	LP **
Liaison sérologie-charge parasitaire	12 mois - 4 ans	$r = 0,19$ (185 ddl)	LP ***
	5 ans - 9 ans	$r = -0,07$ (233 ddl)	LN NS

LP = liaison positive; LN = liaison négative  
NS = non significatif (âges en mois et années révolus).  
\* :  $p < 0,05$   
\*\* :  $p < 0,01$   
\*\*\* :  $p < 0,001$

## Discussion

Les mécanismes de protection immunitaire vis-à-vis du paludisme sont complexes et imparfaitement connus. Outre l'intervention de phénomènes d'immunité humorale (9, 14), l'immunité cellulaire joue également un grand rôle (6, 7, 14, 18, 19).

Au plan humoral, ce sont essentiellement les anticorps dirigés contre les formes asexuées du parasite (4, 5, 8, 14) qui ont été étudiés, encore que de récents travaux mettent en évidence une action spécifique des anticorps antisporozoïtes (11, 12), des anticorps antigamétocytes (15, 17), et des anticorps dirigés contre des antigènes situés à la surface de l'érythrocyte infecté (3, 13).

La technique d'immunofluorescence indirecte explore un grand nombre de déterminants antigéniques des formes asexuées; certains des anticorps dosés peuvent induire une véritable protection, d'autres n'être que de simples indicateurs de l'infection (certains auteurs parlent de «véritable mosaïque antigénique» (1)). Il est dans ces conditions extrêmement difficile d'attribuer avec certitude à l'un ou l'autre de ces anticorps dont on ignore la nature exacte un pouvoir protecteur spécifique vis-à-vis de l'infection paludéenne. Sans chercher à élucider leur mécanisme d'action, nous avons essayé, en étudiant au plan statistique les relations entre sérologie et parasitologie chez un même individu et dans un échantillon d'enfants important, de mieux préciser les modalités d'acquisition de ces anticorps et leur rôle protecteur probable.

En-dessous de l'âge de 1 an, il existe une majorité (60 %) de sujets  $P \ominus$   $I \ominus$  (non encore infestés, non encore immunisés). Les enfants  $P \oplus$   $I \oplus$ , encore rares (10 % de l'effectif), se groupent en fin de classe (2<sup>ème</sup> semestre



de vie); ils représentent vraisemblablement des nourrissons qui, soumis aux premières infestations, commencent à développer des anticorps. Les enfants  $P \ominus I \oplus$  en revanche (22 %) dont le nombre décroît à partir du 2<sup>ème</sup> semestre correspondent à des individus non encore infestés, protégés par des anticorps materno-transmis.

Les sujets  $P \oplus I \ominus$  enfin ont l'effectif le plus réduit dans la classe 0-11 mois (8 %) et c'est dans cette classe qu'ils représentent le pourcentage le plus important; on peut penser qu'il s'agit d'enfants non encore immunisés, déjà infestés par le *Plasmodium* (fig. 1).

L'association positive constatée entre parasitémies et taux d'anticorps (tableau 3) est la conséquence principalement de la forte proportion de sujets  $P \ominus I \ominus$  dans cette tranche d'âge, mais aussi de sujets  $P \oplus I \oplus$  nouvellement infestés et qui développent leur immunité.

A partir de un an, le nombre des sujets  $P \oplus I \oplus$  augmente rapidement (31 %) alors que les enfants  $P \oplus I \ominus$  diminuent (20 %). Les enfants infestés de façon répétitive développent des anticorps à des taux relativement importants.

Parallèlement, la proportion de sujets  $P \ominus I \oplus$ , après avoir diminué en fin de première année (disparition des anticorps materno-transmis), se met à croître de façon très significative et atteint 47 %. Ces enfants ont probablement acquis une immunité protectrice qui les négative au moins temporairement sur le plan parasitologique. Les sujets  $P \oplus I \ominus$ , ainsi que l'on peut s'y attendre, voient leur proportion diminuer jusqu'à un niveau très bas (environ 3 %), (fig. 1).

La corrélation très fortement positive constatée entre parasitémies et taux moyens d'anticorps peut s'expliquer par la conjonction entre infestations répétées et acquisition d'une immunité non encore efficace sur le plan de la protection.

Passé l'âge de 5 ans, on assiste à une nouvelle progression de l'effectif des enfants  $P \ominus I \oplus$  qui représentent la majorité des enfants de cette classe (65 %). On peut considérer qu'il s'agit de sujets protégés, de forts taux d'anticorps (dont le titre moyen passe de 244 pour la classe d'âge précédente à 488 pour la classe 5 ans-9 ans (fig. 2)) s'associant à une parasitémie nulle.

L'effectif des sujets  $P \oplus I \oplus$  reste relativement stable (27 %) mais si, dans cette classe, le taux moyen d'anticorps varie peu (378 pour les 1 an-5 ans, 402 pour les 5 ans-9 ans), la parasitémie moyenne chute de manière significative (10 000 parasites/mm<sup>3</sup> pour les 1 an-5 ans, 2 300 parasites/mm<sup>3</sup> pour les 5 ans-9 ans). Le nombre des enfants  $P \ominus I \ominus$  diminue (6 %) alors que les individus  $P \oplus I \ominus$  restent toujours très rares (2 %) (fig. 1).

L'étude des liaisons entre variables quantitatives confirme l'hypothèse que les anticorps mis en évidence par l'immunofluorescence indirecte sont le témoin, au moins partiel, d'une protection des individus: les 2 coefficients de corrélation (liaison anticorps-âge et parasitémie-âge) montrent une évolution inverse des titres d'anticorps (qui augmentent) et des charges parasitaires (qui diminuent); quand l'âge des sujets augmente, la corrélation charge parasitaire-taux d'anticorps qui, d'abord très fortement positive (1 an-4 ans), tend à se négativer (5 ans-9 ans) traduit également le fait que, passé 5 ans, les enfants ont dans leur majorité acquis une immunité marquée par des taux d'anticorps en progression et une parasitémie qui va en diminuant (ta-

bleau 4). Cette étude montre que les anticorps mis en évidence par l'immunofluorescence indirecte ne sont pas seulement le témoin d'une infection récente, mais sont significativement associés à l'apparition d'une protection individuelle, que cette protection soit directement induite par les anticorps ou soit le fait de tiers facteurs liés à l'un et à l'autre de ces phénomènes. Cette tendance avait déjà été évoquée par Molineaux et Gramiccia au Nigeria (10) et Sulzer *et al.* au Congo (16).

#### Acquisition of immunity in an area of endemic malaria (Sudan-Sahel savanna).

*Summary.* — Blood samples were collected from 500 children under 10 years of age during a medical investigation in Niger in 1982. This study enabled certain statistical relations to be established between age, parasitological densities during *Plasmodium* infections and rates of circulating antischizont antibodies.

In the epidemiological context of the investigation, three standard serological statuses can be distinguished, according to the age of the subjects. As a whole, children under one year of age showed no notable parasitaemia or antibodies. In children aged between 1 and 5 years, the first infestations were accompanied by the appearance of serum antibodies. In children over 5 years of age the acquisition of a partial protection was represented by a dissociation between parasitaemias (which disappear or correspond to lower parasitological densities) and circulating antibodies, the rates of which increase.

#### Malaria immuniteit in een endemisch gebied (Soedan-Sahel savanne).

*Samenvatting.* — Bloedmonsters werden gedurende een enquête in Niger, in 1982, verzameld bij kinderen van minder dan 10 jaar. Dit liet toe bepaalde statistische verbanden aan te tonen tussen leeftijd, parasitetendensiteit tijdens een *Plasmodium* infectie, en circulerende antilichamen tegen schizonten.

In die bestudeerde epidemiologische context, konden in functie van de leeftijd 3 types serologische veranderingen worden onderscheiden. Onder de leeftijd van één jaar hadden de kinderen meestal geen parasitemie noch aantoonbare antilichamen. Tussen 1 en 5 jaar gingen de eerste besmettingen gepaard met het verschijnen van serum antilichamen. Vanaf de leeftijd van 5 jaar ging het verwerven van een gedeeltelijke bescherming gepaard met een dissociatie tussen parasitemies (die verdwijnen of een lagere parasitetendensiteit te zien geven) en circulerende antilichamen (die toenemen).

Reçu pour publication le 31 mars 1988.

#### REFERENCES

1. Ambroise-Thomas P: La réaction d'immunofluorescence dans l'étude séro-immunologique du paludisme. *Bull. Org. Mond. Santé*, 1974, **50**, 267-276.
2. Baudon D, Carnevale P, Robert V, Peyron F, Sibi Sona L, Gniminou L: Etude épidémiologique du paludisme dans la région de Tillabéri (Nord-Ouest du Niger). *Méd. Afr. Noire*, 1986, **33**, 281-290.
3. Brown GV, Culvenor JG, Crewther PE, Bianco AE, Coppel RL, Saint RB, Stahl HD, Kemp DJ, Anders RF: Localization of the ring-infected erythrocyte surface antigen (RESA) of *Plasmodium falciparum* in merozoites and ring-infected erythrocytes. *J. Exp. Med.*, 1985, **162**, 774-779.
4. Cohen S, Butcher GA: The immunologic response to *Plasmodium*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 1972, **21**, 713-721.
5. Cohen S, Butcher GA, Mitchell GH: Mechanisms of immunity to malaria. *Bull. Wld Hlth Org.*, 1974, **50**, 251-257.
6. Greenwood BM, Vick RM: Evidence for a mitogen in human malaria. *Nature*, 1975, **47**, 73-80.
7. Kass L, Willerson D, Rieckmann KH, Carson PE: Blastoid transformation of lymphocytes in falciparum malaria. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 1971, **20**, 195-198.
8. McGregor IA: Mechanisms of acquired immunity and epidemiological patterns of antibody responses in malaria in man. *Bull. Wld Hlth Org.*, 1974, **50**, 259-266.
9. McGregor IA: Current concepts concerning man's resistance to infection with malaria. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1983, **76**, 433-445.
10. Molineaux L., Gramiccia G: Le projet Garki. Genève, Organisation Mondiale de la Santé, 1980.
11. Nardin EH, Nussenzweig RS, McGregor IA, Bryan JH: Antibodies to sporozoites: their frequent occurrence in individuals living in an area of hyperendemic malaria. *Science*, 1979, **206**, 597-599.

12. Nardin EH, Nussenzweig RS, Bryan JH, McGregor IA: Congenital transfert of antibodies against malarial sporozoites detected in Gambian infants. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 1981, **30**, 1159-1163.
13. Perlmann H, Berzins K, Wahlgren M, Carlsson J, Bjorkmann A, Patarroyo ME, Perlmann P: Antibodies in malarial sera to parasite antigens in the membrane of erythrocytes infected with early asexual stages of *Plasmodium falciparum*. *J. Exp. Med.*, 1984, **159**, 1686-1704.
14. Playfair JHL: Immunity to malaria. *Brit. Med. Bull.*, 1982, **38**, 153-159.
15. Ponnudurai T, Van Gemert GJ, Bensink T, Lensen AHW, Meuwissen JHET: Transmission blockade of *Plasmodium falciparum*: its variability with gametocyte numbers and concentration of antibody. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1987, **81**, 491-493.
16. Sulzer A, Moyroud J, Turner A, Bosseno MF, Chisholm E, Ovazza L., Lissouba P, Carnevale P: Les anticorps antiplasmodiaux materno-transmis et leur évolution chez le nourrisson en zone d'endémie palustre stable (République Populaire du Congo). *Cah. ORSTOM Sér. Ent. Méd. Parasitol.*, 1986, **24**, 159-173.
17. Vermeulen AN, Ponnudurai T, Beckers PJA, Verhave JP, Smits MA, Meuwissen JHET: Sequential expression of antigens on sexual stages of *Plasmodium falciparum* accessible to transmission blocking antibodies in the mosquito. *J. Exp. Med.*, 1985, **162**, 1460-1476.
18. Wyler DJ, Oppenheim JJ: Lymphocyte transformation in human *Plasmodium falciparum* malaria. *J. Immunol.*, 1974, **113**, 449-454.
19. Wyler DJ, Herrod HG, Weinbaum FI: Response of sensitized and unsensitized human lymphocyte subpopulations to *Plasmodium falciparum* antigens. *Infect. Immun.*, 1979, **24**, 106-110.