

LE PALUDISME CHEZ LES ENFANTS D'AGES
"PRESCOLAIRE" ET "SCOLAIRE"
EN REPUBLIQUE POPULAIRE DU CONGO

Rapport de stage présenté par
Josiane RAKOTOSON

O.R.S.T.O.M. - BRAZZAVILLE
1976

25 FEV. 1977

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 8537 Ent Med.

P L A N

I - MATERIEL ET METHODES

- a) Préparation de l'antigène
- b) Prélèvement de sang et dilutions
- c) Protocole
- d) Lecture

II - RESULTATS

- a) Espèces plasmodiales
- b) Résultats en fonction de l'âge
- c) Résultats en fonction des variations saisonnières

III - DISCUSSION ET CONCLUSION

Dans le cadre d'une enquête épidémiologique en République Populaire du Congo, nous nous proposons de déterminer la prévalence et la transmission du paludisme chez les enfants d'âges "préscolaire" et "scolaire", la nature de l'immunité, les anticorps étant mis en évidence par la sérologie.

La recherche des anticorps antipalustres par immunofluorescence indirecte (IFI) [AMBROISE-THOMAS, 1969] a un intérêt diagnostique, mais surtout épidémiologique. Cette technique nous a paru pratique du fait qu'elle ne nécessite qu'une petite quantité de sang.

I - MATERIEL ET METHODES

Des examens parasitologiques et des réactions d'immunofluorescence indirecte ont été faits simultanément chez des bébés sélectionnés âgés de moins d'un an à l'Hopital Militaire de Brazzaville et chez des nourrissons de Djoumouna, village situé sur la route de Linzolo, à 20 km au Sud-Ouest de la ville. Les examens ont été répétés mensuellement.

Dans la première région, le paludisme sévit de façon hypo-endémique tandis qu'il est méso- voire hyper-endémique dans la deuxième (selon la classification de l'OMS, 1964). Le vecteur principal est Anopheles gambiae A (CARNEVALE, 1972).

Le mode opératoire pour la réaction d'IFI est le suivant.

a) Préparation de l'antigène

Nous avons utilisé Plasmodium falciparum comme antigène. Le sang est prélevé à des personnes en pleine crise de paludisme ou à partir de placenta fortement infecté.

Des frottis sont faits sur des lames de $8.10/10^6$ de mm et séchés sous ventilation. Les lames sont ensuite enveloppées par 10 dans du papier et conservées à -20°C dans un flacon hermétique contenant de l'actigel. La conservation est bonne pendant trois mois.

Au moment de l'emploi, pour éviter que les frottis ne se recouvrent de buée, ils sont placés pendant une heure dans un dessiccateur à température ambiante.

b) Prélèvement de sang et dilutions

En piquant le bout du doigt, les prélèvements se font:

- sur papier filtre (papier Whatmann n°1), puis séché (GUTHE et al., 1964),

- ou sur capillaire (qui sera bien rempli) hépariné, facilitant la conservation et le transport sur le terrain (AMBROISE-THOMAS, 1969).

Des confettis de 5 mm de diamètre sont découpés dans le papier Whatmann. Ils sont ensuite divisés en 2, 4 et 8.

Le contenu du capillaire, une fois au laboratoire, est absorbé sur papier Whatmann qui, une fois séché, est mis à éluer dans 14 gouttes de tampon pendant 12 heures à 4°C. La dilution de l'éluat obtenu est de l'ordre de 1/20 (AMBROISE-THOMAS et al., 1974). Cette solution est diluée au 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280 et 1/2560.

La composition du tampon pour un volume de deux litres est de:

- Na Cl 17 g
Na₂H PO₄ 2,81 g
Eau distillée 2000 ml

ou - Na Cl 17 g
Na₂H PO₄ , 12 H₂O 7,08 g
Eau distillée 2000 ml

Le ph est 7,2 à 7,4 .

c) Protocole

La technique est celle décrite par WERY et al. (1970), mais avec certaines variantes.

Nous dessinons 8 cercles à l'aide de vernis à ongles sur chaque lame d'antigène.

Nous déposons dans chaque cercle 0,03 ml de tampon. Les confettis ou leurs divisions sont placés sur le sommet de chaque goutte. Les dilutions obtenues sont respectivement de 1/20, 1/40, 1/80 et 1/160. Nous laissons agir

une heure en atmosphère humide.

Pour les éluats, une goutte de dilution à tester est déposée dans chaque cercle. La réaction se fait pendant 30 minutes en atmosphère humide.

Les lames sont lavées dans trois bains successifs de tampon pendant 30 minutes.

L'eau de rinçage en excès est éliminée et on recouvre les lames de 1 ml de serum fluorescent dilué au 1/200 (antiglobulines humaines de l'Institut Pasteur de Paris). On laisse incuber 30 minutes en atmosphère humide.

Les lames sont lavées dans trois bains comme précédemment et les frottis sont montés à l'aide d'un mélange : glycérine (1 ml) - tampon (9 ml).

d) Lecture

La lecture se fait au microscope à fluorescence standard CARL ZEISS équipé avec une lampe à vapeur de mercure HBO 200, avec les combinaisons : oculaires x12 et objectif x40.

Le meilleur contraste a été obtenu avec le filtre d'excitation BG 12 et les filtres d'arrêt 50 et 44.

Le titre IFI retenu est la dernière dilution qui donne une fluorescence encore décelable par rapport à un témoin négatif.

II - RESULTATS

a) Espèces plasmodiales

La majorité des infections est due à Plasmodium falciparum (96,90%), Plasmodium malariae, puis Plasmodium ovale. On rencontre parfois des combinaisons P. falciparum + P. malariae ou P. falciparum + P. ovale, mais dans des proportions très faibles.

b) Résultats en fonction de l'âge

Chez les enfants de 0 à 1 an de Brazzaville (Hopital Militaire), l'examen parasitologique montre l'absence de parasites. Ceci peut être dû à la chimionophylaxie et à la densité relativement faible des moustiques.

Les enfants de Djoumouna ont été classés en six groupes d'âge. (tableau I).

Pour le groupe d'âge de moins d'un an, la parasitémie est très faible (tableau I bis).

Les résultats de la réaction d'IFI indiquent que la moyenne des titres d'anticorps fluorescents est de 1/20 à Brazzaville. Elle est un peu plus élevée pour les enfants de Djoumouna (1/100) [tableaux 3 et 4].

Les anticorps décelés chez les nouveaux-nés au jour J 1 ou J 8 ont été transmis par leur mère. Ils bénéficient d'une immunité passive. Puis les taux d'anticorps maternels diminuent rapidement tandis que l'enfant commence à développer ses propres anticorps (BRUCE-CHWATT, 1954 - 1963).

Les indices plasmodiques augmentent jusqu'à 5 ans. Au-delà de 5 ans l'indice ne présente pas de grande variation bien qu'il soit élevé (DRAPER et al., 1972). Tout en étant en contact permanent avec le vecteur c'est-à-dire piqués en permanence, les sujets suivis ne présentent pas de signes cliniques. Ils jouent donc le rôle de réservoirs de virus.

Chez ces mêmes groupes d'âge, les titres d'anticorps varient de 1/20 à 1/2560, pouvant atteindre 1/5120 chez des enfants de plus de cinq ans.

Ces données indiquent que les titres d'anticorps augmentent avec l'âge, évoquant l'acquisition d'une immunité relative (SERGENT et SERGENT, 1956).

C'est ce qu'ont noté VOLLER et BRAY (1962) au Nigéria, DETOWITZ et SAAVE (1965), MCGREGOR et al. (1965) en Gambie, REY et al. (1967) au Sénégal, VOLLER et SCHINDLER (1967) au Nigéria du Nord, VOLLER et BRUCE-CHWATT (1968) au Nigéria, LOBEL et al. (1973), JEFFERY et al. (1975) et MEUWISSEN et al. (1975).

Il est à signaler que la réaction d'IFI puisse être négative bien que l'examen parasitologique montre une forte parasitémie, indiquant peut-être une primo-infection ? (COLLINS et al., 1964a - 1964b).

c) Résultats en fonction des variations saisonnières

Nos observations ont été faites en saison des pluies (janvier-avril) et pendant une partie de la saison sèche (mai-juillet) [tableau 2].

En saison sèche, l'indice plasmodique est élevé (30-40%). Cette situation pourrait être attribuée à une recrudescence de Plasmodium falciparum ou/et à une diminution de la résistance physiologique des individus à cause des conditions climatiques défavorables. L'indice gamétocytaire est

faible (3,57 à 4%) traduisant une régression du paludisme (graphique I).

L'indice plasmodique en saison des pluies est en moyenne inférieure à celui de la saison sèche. Par contre, l'indice gamétocytaire est plus élevé (par exemple, 14,81% en avril), indiquant une expansion du paludisme.

Les résultats sérologiques montrent que les taux d'anticorps fluorescents de la saison sèche sont supérieurs à ceux de la saison des pluies. Ceci corrobore avec les examens parasitologiques (graphiques 2 et 3).

Ces résultats sont comparables à ceux de KAGAN et al. (1969) concernant les anticorps hémagglutinants.

III - DISCUSSION ET CONCLUSION

A Djoumouna où le paludisme est endémique, les indices obtenus montrent que la transmission a été continue de janvier à juillet pendant la durée de nos examens, mais son intensité varie avec les saisons. La transmission est plus intense en saison des pluies. En saison sèche, l'indice plasmodique élevé indique les recrudescences de la maladie d'où les variations de la parasitémie liée au taux d'inoculation et à la réponse immunitaire de l'hôte.

L'apparition des anticorps fluorescents est liée au développement de la parasitémie, comme dans le cas de paludismes animaux (COLLINS et al., 1967 - GARIN et al., 1971 - BURRIDGE et KIMBER, 1973).

Les taux d'anticorps augmentent pendant la saison sèche et avec l'âge. Les titres élevés impliquent que la transmission est continue et active. Ces taux de positivité permettent d'établir le pourcentage d'individus qui a été ou non en contact avec le parasite et de les classer par groupe d'âge (AMBROISE-THOMAS et al., 1971).

Ainsi les tests d'IFI nous indiquent la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection et pas nécessairement la présence du parasite. Les anticorps peuvent persister longtemps après la disparition de la parasitémie. La recrudescence et la persistance d'infections traitées avec des médicaments insuffisants, la "résistance" de l'hôte agissent sur cette présence d'anticorps (BRUCE-CHWATT et al., 1972).

Ces résultats sont appuyés par ceux de COLLINS et al. (1964), TOBIE

et al.(1966), FISHER et al.(1970), MATHEWS et al.(1970), WILSON et al.(1970), DRAPER et al.(1972), GLEASON et al.(1972), COLLINS et al.(1975), SEGAL et al.(1975) et WARREN et al.(1975a - 1975b).

Les rechutes s'accompagnent d'une augmentation des anticorps fluorescents (TOBIE, 1964).

D'après l'évolution des titres d'anticorps, ils semblent passer par différents stades:

- une période de latence, pendant les premiers mois de la vie d'un enfant ou au moment de la ~~primo~~-infection,

- une élévation rapide atteignant ensuite un plateau après une réinfection,

- et une baisse rapide, à la disparition de la parasitémie.

Ces résultats sont comparables à ceux de paludismes expérimentaux de TOBIE et al.(1962), KUVIN et al.(1963), TOBIE (1964), LUNN et al.(1966) TOBIE et al.(1966) et BIDWELL et al.(1973).

Ainsi la "résistance" au paludisme chez les enfants de Djoumouna s'exprimant par une immunité relative d'une part et par une immunité acquise d'autre part, est une chose certaine. Le mode d'alimentation jouerait peut-être un rôle dans l'acquisition de cette immunité ? (FILLASTRE et al., 1976). Elle pourrait aussi s'expliquer par la fréquence de l'hémoglobine S, mais ceci reste encore à prouver.

La résistance serait-elle due aux anticorps contre les antigènes S? (WILSON et al., 1975a et 1975b).

Une étude sur les immunoglobulines sériques serait à envisager pour voir s'il existe une corrélation entre leur concentration et l'acquisition de l'immunité à l'infection palustre.

Age	♂											
	0-1		1-2		2-3		3-4		4-5		+5	
Lames	ex.	+	ex.	+	ex.	+	ex.	+	ex.	+	ex.	+
JANV. - AVRIL	6	3	7	2	8	6	10	8	9	3	18	8
MAI - JUIL.	3	0	4	1	9	4	14	5	13	7	23	9

Age	♀											
	0-1		1-2		2-3		3-4		4-5		+5	
Lames	ex.	+	ex.	+	ex.	+	ex.	+	ex.	+	ex.	+
JANV. - AVRIL	9	1	13	5	11	2	5	0	20	5	16	6
MAI - JUIL.	2	0	8	2	7	4	5	2	14	3	22	10

TOTAL	Nb ex.	Nb +	
		132	49
	118	47	MAI - JUIL.

- Tableau I -

Infection palustre à Djoumouna

	I.P. général %	I.P. 0-5 ans	I.P. +5 ans
JANVIER	25,0	26,9	-
FEVRIER	31,8	22,2	75,0
MARS	43,1	41,9	53,8
AVRIL	29,5	33,3	23,5
MAI	39,0	42,3	33,3
JUIN	30,0	24,0	40,0
JUILLET	44,1	39,2	53,3

- Tableau I bis -

Variations de l'indice plasmodique (I.P.)
en fonction du groupe d'âge (Djournouna).

	JANV.	FEV.	MARS	AVR.	MAI	JUIN	JUIL.
Tminimale °C	20,5	20,2	20,5	20,8	20,6	17,9	14,9
Tmaximale °C	29,8	29,7	30,2	30,9	31,0	28,2	26,9

Températures minimales et maximales à
Brazzaville - Année 1976

	JANV.	FEV.	MARS	AVR.	MAI	JUIN	JUIL.
H	124,8	130,1	108,2	128,6	63,9	13,1	0
n	11	10	13	12	7	3	0

H : hauteur de pluie en millimètre
n : nombre de jours de pluie

Pluviométrie: moyennes mensuelles à Brazzaville
Année 1976

		Nég.	I/20	I/40	I/80	I/160	I/320	I/640	I/1280	I/2560	
0-1 an	JANV.	I	2			2					
	FEV.	I		2	2						
	MARS	2				3					
	AVR.	I			I	I					
	MAI				I	I				I	
	JUIN					I					
	JUIL.			I							
1-2 ans	JANV.	3	2	I							
	FEV.	I		2	2						
	MARS		2	3			2				
	AVR.	4									
	MAI	I	I							I	
	JUIN						3			I	
	JUIL.	I	I					I	I	I	
2-3 ans	JANV.		3	I							
	FEV.		I				I				
	MARS		2				4				
	AVR.	5		I			I				
	MAI	I		I		I		I		I	
	JUIN	I				I	2			I	
	JUIL.	I					I	3			I
3-4 ans	JANV.		2								
	FEV.	I	I	I	I						
	MARS	I			I		2				
	AVR.	2	2					I	I		
	MAI	3				I	I			I	
	JUIN	2				I	3				
	JUIL.	I						I		3	3
4-5 ans	JANV.	4	5								
	FEV.	2	I	I	I						
	MARS	2	3				4				
	AVR.	4		I			I				
	MAI	3	I	2			3		I		
	JUIN	I				I	5	I		I	
	JUIL.			I			2		I	3	I
+5 ans	JANV.		2								
	FEV.	2	2								
	MARS	2	I	I	2	7					
	AVR.	7	I		3	I	I				
	MAI	3	I	I	2		4	2	I	I	
	JUIN	I	I		2	3	I	I	4	I	
	JUIL.	4	I		I	I		2	4	2	2

I/5120

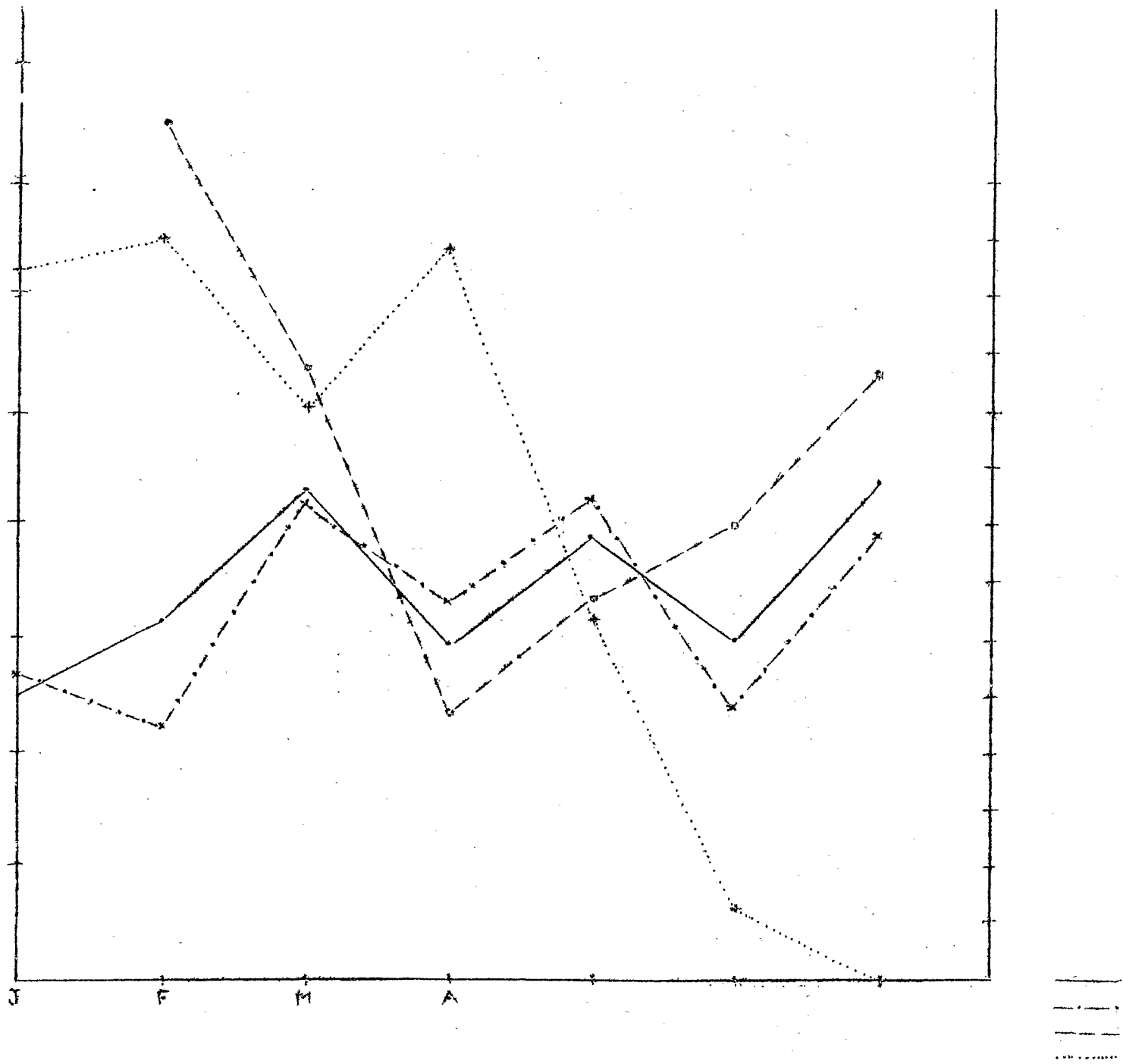
- Tableau 3 - Evolution des titres d'anticorps fluorescents en fonction de l'âge (Djournouna)

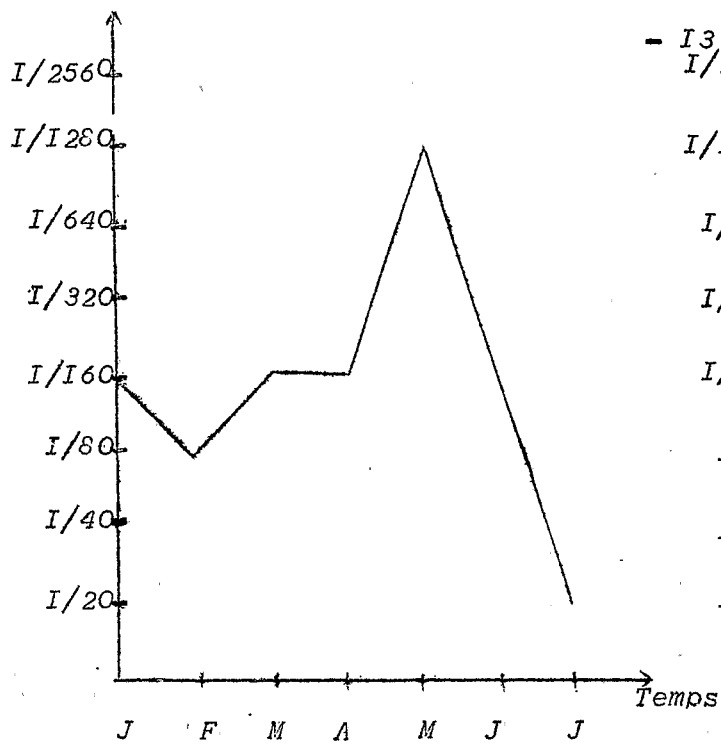
	Nb ex.	Nég.	I/20	I/40	I/80	I/I60
J 1	6	2	4			
J 8	2	1	1			
J 15	5	3	2			
J 30	5	4	1			
J 45	7	6	1			
J 50	3	2	1			
J 60	16	14	2			
J 75 - 80	11	8	3			
J 90	22	15	6		1	
J 100	8	4	4			
J 120	30	13	16		1	
J 135	10	5	3			2
J 150	25	14	9	1		1
J 165	6	2	1		2	1
J 180	13	11	1	1		
J 195	5	3				2
J 210	4	2	1			1
J 240	3	3				

- Tableau 4 -

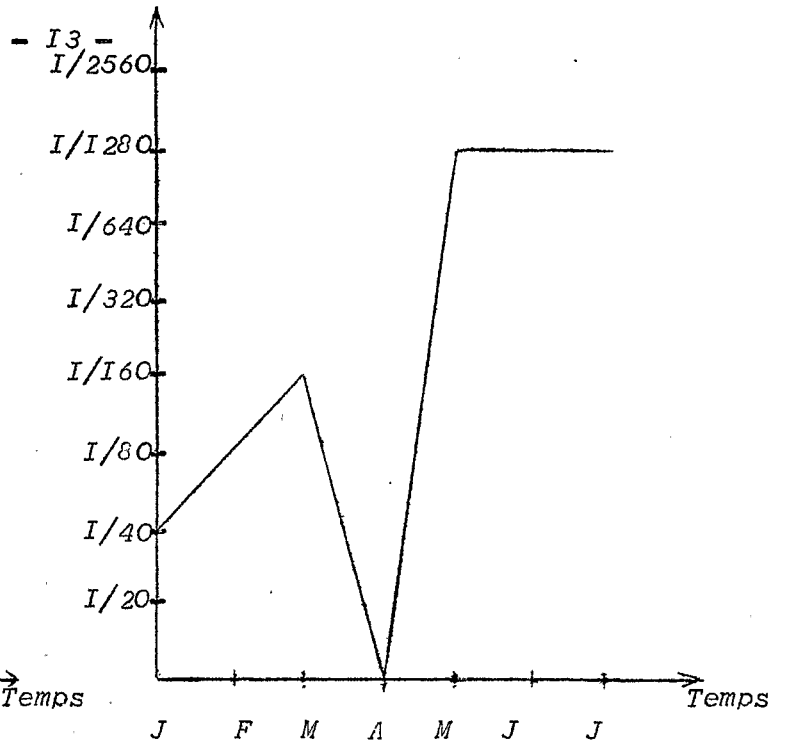
Evolution des titres d'anticorps fluorescents en fonction de l'âge (Hopital Militaire)

- 12 -

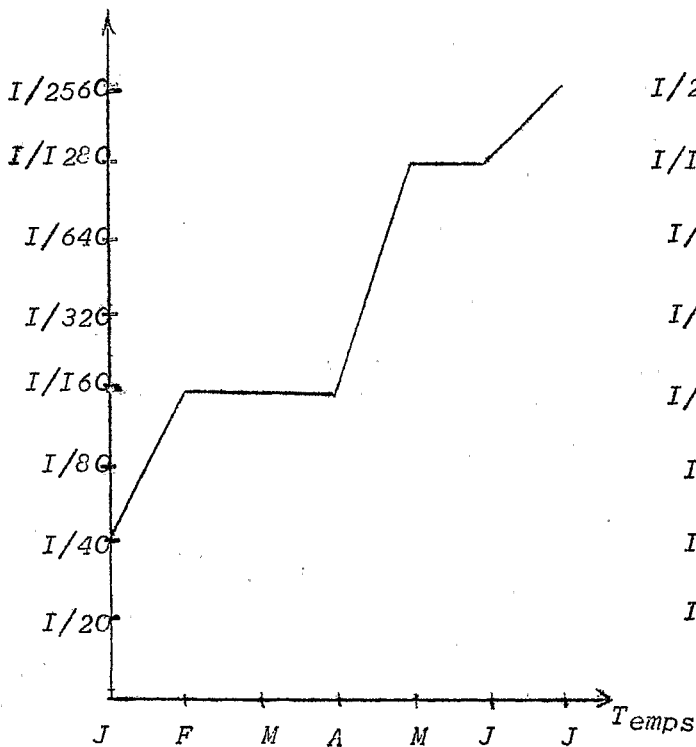




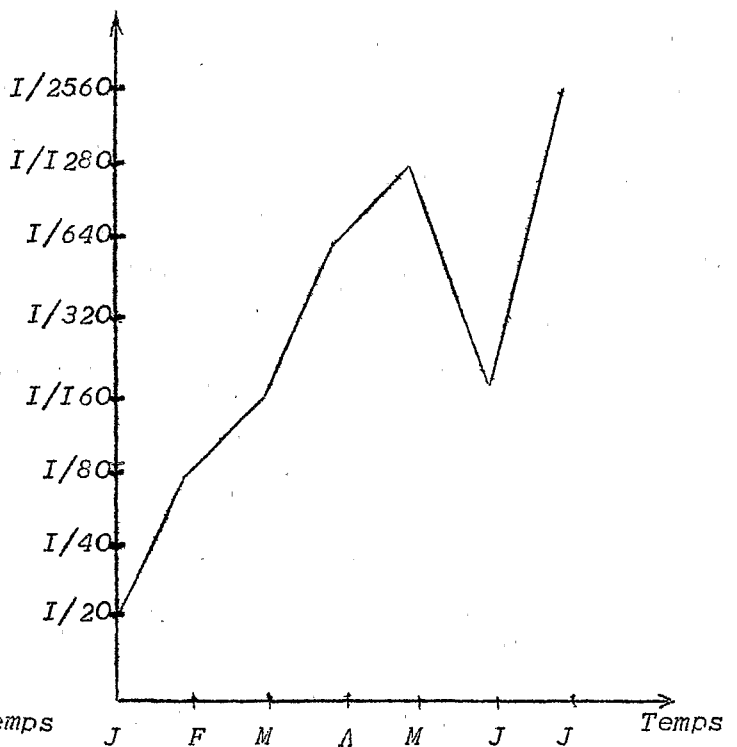
0-1 an



1-2 ans



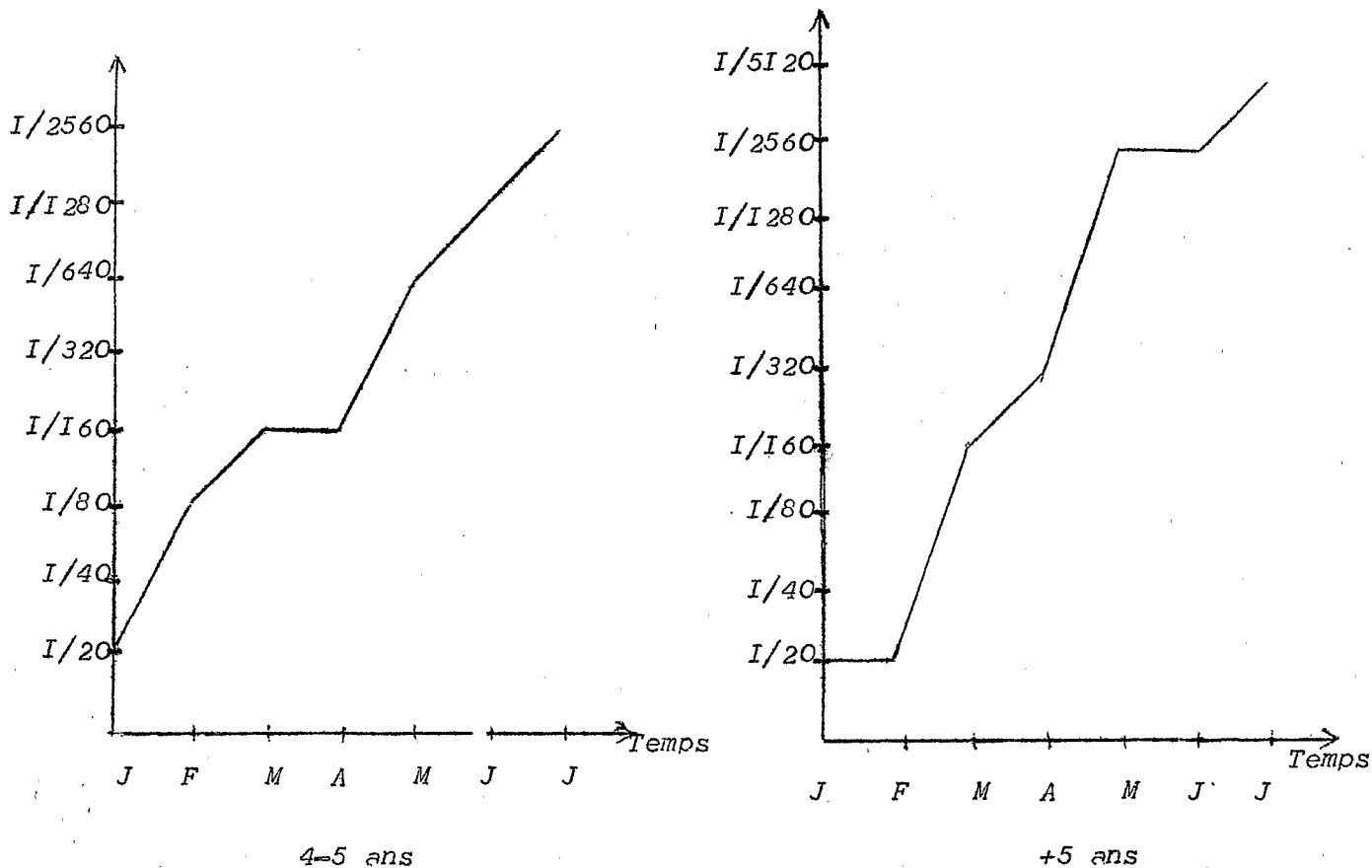
2-3 ans



3-4 ans

- Graphique 2 -

Evolution sérologique en fonction du groupe d'âge (Djournouna).



- Graphique 3 -

Evolution sérologique en fonction du groupe d'âge (Djournouna).

BIBLIOGRAPHIE

- AMBROISE-THOMAS (P.), 1969 - Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immuno-fluorescence. (Thèse - Lyon). 645 pages.
- AMBROISE-THOMAS (P.), GARIN (J.P.), KIEN TRUONG (T.), 1971 - Intérêt de l'immunofluorescence dans le dépistage et l'étude épidémiologique des paludismes animaux.
Bull. Wld Hlth Org., 44 (5), 699-706.
- AMBROISE-THOMAS (P.) et al., 1974 - Serological testing malaria.
Bull. Wld Hlth Org., 50(6), 527-535.
- BIDWELL (D.), VOLLER (A.), MEUWISSEN (J.H.E.T.) and LEEUWENBERG (A.D.E.M.) 1973 - Comparison of indirect haemagglutination and immunofluorescence tests for malaria antibody in Aotus monkeys infected with Plasmodium falciparum. Application of indirect haemagglutination tests for malaria.
Bull. Wld Hlth Org., 49(3), 313-316.
- BRUCE-CHWATT(L.J.), DODGE (J.S.), DRAPER (C.C.), TOPLEY (E.) and VOLLER (A.), 1972 - Seroepidemiological studies on population groups previously exposed to malaria.
Lancet, I, 512-514.
- BURRIDGE (M.J.), KIMBER (C.D.) and MCHARDY (N.), 1973 - Detection of antibodies to Babesia bigemina in dried blood samples using the indirect fluorescent antibody test.
Ann. trop. Med. Parasitol., 67(2), 191-195.
- CARNEVALE (P.), 1972 - Epidémiologie du paludisme humain en République Populaire du Congo. I. Le complexe Anopheles gambiae dans la région brazzavilloise.
Cah. O.R.S.T.O.M., Sér. Ent. méd. Parasitol., 10(4), 281-286.

- COLLINS (W.E.), JEFFERY (G.M.) and SKINNER (J.C.), 1964a - Fluorescent antibody studies in human malaria. I. Development of antibodies to Plasmodium malariae. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13, 1-5.
- COLLINS (W.E.), JEFFERY (G.M.) and SKINNER (J.C.), 1964b - Fluorescent antibody studies in human malaria. II. Development and persistence of antibodies to P. falciparum. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13, 256-260.
- COLLINS (W.E.), SKINNER (J.C.) and COIFMAN (R.E.), 1967 - Fluorescent antibody studies in human malaria. V. Response of sera from Nigerians to five Plasmodium antigens. Amer. J. trop. Med. Hyg., 16, 568-571.
- COLLINS (W.E.), WARREN (McW), SKINNER (J.C.) and FREDERICKS (H.J.), 1968 - Studies on the relationship between fluorescent antibody response and ecology of malaria in Malaysia. Bull. Wld Hlth Org., 39, 451-463.
- COLLINS (W.E.), LUNDE (M.N.) and SKINNER (J.C.), 1975 - Development of antibodies to Plasmodium vivax as measured by two different serologic techniques. Amer. J. trop. Med. Hyg., 24(3), 412-416.
- DESOWITZ (R.S.) and SAAVE (J.J.), 1965 - The application of the haemagglutination test to a study of the immunity to malaria in protected and unprotected population groups in Australian New Guinea. Bull. Wld Hlth Org., 32, 149-159.
- DRAPER (C.C.) et al., 1972 - The epidemiologic interpretation of serologic data in malaria. Amer. J. trop. Med. Hyg., 21, 696-703.
- FILLASTRE (C.), GUERIN (N.), ORSSAUD (E.), CABAU (N.) et coll., 1976 - Immunisation multiple chez le nourrisson africain. Afrique méd., 138, 171-176.
- FISHER (G.U.), SULZER (A.J.), WILSON (M.) and RUNCICK (K.), 1970 - Fluorescent antibody patterns in naturally acquired vivax malaria. Amer. J. trop. Med. Hyg., 19(2), 209-214.

- GARIN (P.), AMBROISE-THOMAS (P.), KIEN TRUONG (T.) and SALIOU (P.), 1971
Evolution des anticorps fluorescents au cours du paludisme humain
par malariathérapie à Plasmodium vivax.
Bull. Wld Hlth Org., 44(5), 689-699.

- GLEASON (N.N.), WILSON (M.), SULZER (A.J.) and RUNCIK (K.), 1971 -Agreement
between microscopical diagnosis and indirect fluorescent-antibody
tests in Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum infections.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 20(1), 10-13.

- JEFFERY (G.M.), WARREN (M.W.), COLLINS (W.E.) and LOBEL (M.), 1975 -
Application of the indirect fluorescent antibody method in a study
of malaria endemicity in Mato Grosso-Brazil.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 24(3), 402-411.

- KAGAN (I.G.), MATHEWS (H.) and SULZER (A.J.), 1969 - The serology of
malaria: recent applications. Bull. N.Y. Acad. Med., 45, 1027.

- KUVIN (S.F.), TOBIE (S.E.), EVANS (C.B.), COATNEY (G.R.) and CONTACOS (P.G.)
1963- Production of malarial antibody: determination by the fluores-
cent antibody techniques. J. Amer. med. Ass., 184, 943-945.

- LOBEL (H.O.), MATHEWS (H.M.) and KAGAN (I.G.), 1973- Interpretation of
IHA titers for the study of malaria epidemiology.
Bull. Wld Hlth Org., 49(5), 486-492.

- LUNN (J.S.), CHIN (W.), CONTACOS (P.G.) and COATNEY (G.R.), 1966- Changes
in antibody titers and serum protein fractions during the course
of prolonged infections with vivax or with falciparum malaria.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 15, 3-10.

- MCGREGOR (I.A.), WILLIAMS (K.), VOLLER (A.) and BILLEWICZ (W.Z.), 1965
Immunofluorescence and the measurement of immune response hyper-
endemic malaria. Trans.R. Soc. trop. Med. Hyg., 59, 395-414.

- MATHEWS (H.M.), FISHER (G.U.) and KAGAN (I.G.), 1970- Persistence of malaria antibody in Tobago, West Indies, following eradication, as measured by the indirect hemagglutination test.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 19, 581-585.

- MEUWISSEN (J.H.E.T.), LEEUWENGERG (A.D.E.M.), VOLLER (A.) and MATOLA (Y.) 1974- Specificity of the indirect haemagglutination test with Plasmodium falciparum test cells. Comparison of indirect haemagglutination and fluorescent antibody tests in African sera.
Bull. Wld Hlth Org., 50 (6), 513-519.

- REY (M.), MCGREGOR (I.A.) and MATTERN (P.), 1967- A propos des anticorps décelés chez les paludéens par immuno-fluorescence.
Méd. Afr. noire, Sénégal, 14, 319.

- SEGAL (H.E.), WILKINSON (R.N.), THIEMANUN (W.), GRESSO (W.E.) and GOULD (D.J.), 1975- Longitudinal malaria studies in rural north-east Thailand: demographic and temporal variables on infection.
Bull. Wld Hlth Org., 50 (6), 505-512.

- SERGENT (E.) et SERGENT (E.), 1956 - History of the concept of "relative immunity" or "premunition" correlated to latent infection.
Indian J. Malarr., 10 (1), 53-80.

- TOBIE (J.E.), KUVIN (S.F.), CONTACOS (P.G.), COATNEY (G.R.) and EVANS (C.B.), 1962- Fluorescent antibody studies in cross reactions between human and simian malaria in human volunteers.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 11, 589.

- TOBIE (J.E.), 1964- Detection of malaria antibodies. Immunodiagnosis.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 13, 195-203.

- TOBIE (J.E.), ABELE (D.C.), HILL (G.J.), CONTACOS (P.G.) and EVANS (C.B.) 1966 - Fluorescent antibody studies on the immune response in sporozoite-induced and blood-induced vivax malaria and the relationship of antibody production to parasitaemia.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 15, 676-683.

- VOLLER (A.) and BRAY (R.S.), 1962- Fluorescent antibody staining as a measure of malarial antibody.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 110, 907-910.

- VOLLER (A.) and SCHINDLER (R.), 1967 - A comparison of complement fixation and fluorescent antibody methods in a longitudinal study of simian malaria infection.
Bull. Wld Hlth Org., 37 (4), 675-678.

- VOLLER (A.) and BRUCE-CHWATT (L.J.), 1968 - Serological malaria surveys in Nigeria. Bull. Wld Hlth Org., 39 (6), 883-897.

- WARREN (McW.), COLLINS (W.E.), SKINNER (J.C.) and LARIN (A.J.), 1975a
The seroepidemiology of malaria in Middle America. I. Longitudinal studies on populations in a low incidence area of El Salvador. Amer. J. trop. Med. Hyg., 24 (5), 740-746.

- WARREN (McW.), COLLINS (W.E.), JEFFERY (G.M.) and SKINNER (J.C.), 1975b
The seroepidemiology of malaria in Middle America. II. Studies on the Pacific coast of Costa Rica.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 24 (5), 749-754.

- WILSON (R.J.M.), MCGREGOR (I.A.) and WILLIAMS (K.), 1975a- Occurrence of S-antigens in serum in Plasmodium falciparum infections in man. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 69 (5 et 6), 453-459.

- WILSON (R.J.), MCGREGOR (I.A.) and HALL (P.J.), 1975b - Persistence and recurrence of S-antigens in Plasmodium falciparum infections in man. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 69 (5 et 6), 460-467.