

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'ultraviolet.

— 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

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

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



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 gé-

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

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

que. 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 juge-

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 effi-

and pyrimethamine in *Plasmodium falciparum* malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 3018-3022.

6. Chougnet 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