

**UNIVERSITE DE REIMS
U.F.R. DE MEDECINE**

THESE

pour l'obtention du

**DIPLÔME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE**

DISCIPLINE : PARASITOLOGIE

présentée et soutenue publiquement
par

Jean-François MOLEZ

le 05 juin 2002

TITRE :

PALUDISME ET PERINATALITE

EN ZONE DE SAVANE ARBOREE D'AFRIQUE DE L'OUEST

Directeur de Thèse

PROFESSEUR JEAN-MICHEL PINON

Laboratoire de Parasitologie & Mycologie
Centre Hospitalier Universitaire de Reims, Hôpital Maison Blanche

JURY

Mr	Martin DANIS	(rapporteur)	Faculté de Médecine de Paris Salpêtrière
Mr	François PEYRON	(rapporteur)	Faculté de Médecine de Lyon I
Mme	Nicole LEGER		Faculté de Pharmacie de Reims
Mr	Michel COT		IRD (INSERM U.149), Paris

Remerciements

Je remercie tout particulièrement les membres de mon jury, Messieurs Michel Cot, Martin Danis, Madame Nicole Léger, Messieurs François Peyron et Jean-Michel Pinon pour avoir accepté d'examiner et de juger la qualité de cette thèse. Je remercie particulièrement Monsieur Jean-Michel Pinon pour son appui moral pour tous mes travaux en parasitologie pendant toutes ces dernières années.

Ces travaux de recherche sur l'épidémiologie du paludisme sur le terrain en Afrique n'ont été possibles que grâce à l'aide et aux conseils de nombreuses personnes de l'IRD parmi lesquelles je tiens à remercier tout particulièrement Messieurs Pierre Carnevale et Jean-Mouchet ainsi que Madame Marie-France Bosseno.

Je remercie les enfants de Soumousso et les femmes de Bobo-Dioulasso, je remercie le personnel des deux maternités de Bobo-Dioulasso pour leur disponibilité et leur complaisance ainsi que les médecins gynécologues accoucheurs, les Dr Zei et Traoré de l'Hôpital Général et le Dr Sanou de la Clinique Municipale de Bobo-Dioulasso.

Ce travail a été réalisé grâce aux moyens et aux personnels mis à notre disposition par le Centre Muraz (OCEAC) et par l'ORSTOM (à Bobo-Dioulasso et à Soumousso), et grâce à une subvention du Ministère français de l'Industrie et de la Recherche (Commission Santé et Développement).

Sommaire

1^{ère} Partie

DYNAMIQUE DE LA TRANSMISSION PALUSTRE EN ZONE DE SAVANE ARBOREE D'AFRIQUE DE L'OUEST

2^{ème} Partie

PALUDISME ET GROSSESSE ETUDE DE L'INFECTION PALUSTRE PLACENTAIRE LES RISQUES CHEZ LA MERE ET CHEZ L'ENFANT ET STRATEGIE DE PROTECTION ANTIPALUSTRE

3^{ème} Partie

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIE

4^{ème} Partie

Sélection d'articles

PLAN

Avant Propos

p. 08

1^{ère} Partie

DYNAMIQUE DE LA TRANSMISSION PALUSTRE

I./ - INTRODUCTION	p. 14
II./ - MATERIEL ET METHODES	
II.a - Site et sujets d'étude	p. 15
II.b - Les différents paramètres observés	p. 15
- Sur le plan climatologique	
- Sur le plan entomologique	
- Sur le plan parasitologique	
II.c - Les différents indices calculés	p. 16
- Sur le plan entomologique	
- Sur le plan parasitologique	
III./ - RESULTATS	
III.a - Données écologiques	p. 17
III.b - Données entomologiques	p. 18
- <i>Anopheles gambiae</i>	
- <i>Anopheles funestus</i>	
- <i>Anopheles nili</i>	
III.c - Données parasitologiques et immunologiques	p. 18
III.d - La dynamique Vecteur ---> Homme	p. 18
- Remarques sur la dynamique anophélienne	
- Remarques sur la dynamique parasitaire	
III.e - La dynamique Homme ---> Vecteur	p. 19
- La question du réservoir de parasites	
- Remarques sur la dynamique gamétocytaire	
IV./ - DISCUSSION	
IV.a - A propos des stades asexués circulants	p. 20
IV.b - A propos des stades sexués circulants	p. 21
IV.c - A propos de la dynamique de transmission	p. 21

2^{ème} Partie

ETUDE DE L'INFECTION PALUSTRE PLACENTAIRE

I./ - INTRODUCTION	p. 31
II./ - MATERIEL ET METHODES	
II.a - Site d'étude et patients	p. 32
II.b - Protocoles d'enquêtes	p. 33
- Fiche d'enquête	
- Description des enquêtes	
III./ - INFECTION PLACENTAIRE ET RISQUES	
III.a – Réalité et intensité des parasitémies	p. 38
- Fréquence des parasitémies placentaires	
- Fluctuations saisonnières des infections	
III.b - Age, parité et densité	p. 41
- Age et infection placentaire	
- Parité et infection placentaire	
- Aspect des infections placentaires	
III.c - Enquête en zone urbaine	p. 47
- La transmission palustre urbaine	
- L'apposition placentaire comme «outil» d'enquête	
III.d - Parasitémie et placenta	p. 53
- Parasitémie sanguine placentaire	
- Parasitémie et séquestration intervillitaire	
III.e - L'incidence fœtale	p. 56
- Les effets de l'hypoxie fœtale	
- Etude des petits poids de naissance	
- Etude du déficit pondéral	
III.f - Le paludisme congénital	p. 63
- Fréquence et réalité du paludisme congénital	
- « Parasitémie congénitale » à Bobo-Dioulasso	
- Paludisme « maladie » et paludisme « infection »	
III.g - L'interface placentaire	p. 67
- La question du passage actif ou passif	
- La question des lésions histologiques	
- La question du tropisme parasitaire	

IV./ - REACTION CELLULAIRE ET IMMUNE	
IV.a - Parasitémie et réaction macrophagique	p. 71
- Infection et réaction macrophagique	
- Réaction macrophagique et âge de l'infection	
IV.b - Parasitémie et réaction immunitaire	p. 75
- Materno-transmission des anticorps antipalustres	
- Age de parasitémie et types d'anticorps	
IV.c - Parasitémie et immunité materno-transmise	p. 77
- Démarrage de l'immunité de prémunition palustre	
- Recherche des anticorps antipalustres materno-transmis	
- La question des immunoglobulines Ig.M	
- La question des antigènes palustres circulants	
IV.d - Parasitémie et sérologie foeto-natale	p. 80
- Démarrage <i>in utero</i> de l'immunité anti-palustre	
- Saisonnalité de l'immunité materno-transmise	
V./ - PARASITEMIE ET HEMOGLOBINE	
V.a - Le polymorphisme des hémoglobines	p. 85
- l'Afrique et son polymorphisme hémoglobinique	
- La spécificité du Plateau Voltaïque	
V.b - Hémoglobinopathies et paludisme	p. 86
- Drépanocytose et paludisme	
- Thalassémie mineure et paludisme	
VI./ TYPAGE BIOCHIMIQUE DES PARASITES	
VI.a – Typage de l'hématozoaire	p. 90
- Isozymes de <i>Plasmodium falciparum</i>	
- Isozymes des souches placentaires	
VI.b – Isozymes et infection placentaire	p. 92
- Polymorphisme de la parasitémie circulante	
- Infection placentaire est-elle monomorphe ?	
VII./ LES STRATEGIES DE PROTECTION	
VII.a – Chimio-protection et infection palustre	p. 93
- Chloroquinisation et chloroquinorésistance	
- Chloroquinisation et prémunition maternotransmise	
- Chloroquinisation et déficit pondéral	
- Chloroquinorésistance et mortalité infantile	
- Chloroquinorésistance et la question d'un gamétocytocide	

VII.b - Stratégies pour la parturiente	p. 97
- Parturientes et antipaludéens	
- Infection placentaire et accès palustre	
- Choix de la chimioprophylaxie et PMI	
VII.c - Stratégies pour le jeune enfant	p. 102
- La question du paludisme du nouveau-né	
- La chimiothérapie de l'enfant	
VII.d - L'utilisation des moustiquaires imprégnées	p. 103
- Les moustiquaires imprégnées comme moyen de lutte	
- Essai de stratégie de lutte pour les groupes à risque	

3^{ème} Partie

SYNTHESE :

Discussions sur la transmission palustre en zone soudanienne	p. 106
les fluctuations saisonnières	
la dynamique parasitaire	
Discussions sur la parasitémie chez la parturiente et le nouveau né	p. 109
l'infection placentaire saisonnière	
le risque saisonnier de déficit pondéral	
la chloroquino-stratégie des parturientes	
Eléments de stratégie pour les PNL	p. 114
l'apposition placentaire comme outil d'enquête	
le traitement curatifs des parturientes en PMI	

BIBLIOGRAPHIE	p. 117
----------------------	--------

4^{ème} Partie

SELECTION D'ARTICLES	p. 132
-----------------------------	--------

Liste des articles sélectionnés

Avant Propos

La mise en place des PNL

En Afrique noire, dans les régions d'endémie palustre, surtout en zone inter-tropicale de transmission continue, le paludisme n'a jamais vraiment régressé (sauf en zones urbaines ou le vecteur anophélien est absent, car il n'y a pas de biotope larvaire qui lui convient). Pour cela depuis quelques années l'OMS conjugue ses efforts pour qu'existe dans chaque pays d'Afrique noire un Programmes Nationaux de Lutte contre le Paludisme (PNLP). D'autre part, l'OMS et l'UNICEF donnent actuellement la priorité à l'amélioration de la santé chez la femme et chez l'enfant (amélioration de la morbidité et de la mortalité).

La problématique des PNL

Les structures sanitaires commencent seulement à bien fonctionner en zones rurales d'Afrique noire avec la restructuration des Postes de Santé et des centres Protection Maternelle et Infantile (PMI). Depuis quatre ans des PNL sont mis en place et se développent progressivement, mais ils sont encore en phase de recherche pour des stratégies appliquées aux différents écosystèmes d'endémie palustre et pour limiter leur coût de fonctionnement. La problématique majeure des PNL est d'une part la chimiorésistance qui s'est installée un peu partout et d'autre part la démographie avec les problèmes d'accès aux soins.

Les objectifs des PNL

Pour une action efficace des PNL, il faut qu'ils redéfinissent les types de stratégie de contrôle adaptées aux différents les écosystèmes palustres et pour cela il leur faut bien connaître la dynamique de transmission. Il faut également que les PNL limitent l'escalade des dépenses avec l'utilisation des nouvelles molécules antipaludéennes du fait de la chimiorésistance. Ces programmes ont comme priorité de cibler les femmes enceintes comme un de leurs objectifs, ils vont chercher a bien connaître le mécanisme de l'infection parasitaire placentaire chez les parturientes pour pouvoir définir une ou des stratégies de contrôle du paludisme applicables dans les centres de PMI.

L'étude de l'infection palustre

Le travail du paludologue et/ou de l'expert chargé du Programme National de Lutte contre le Paludisme doit être à la fois épidémiologique et clinique, il faut bien connaître la dynamique palustre et les risques chez la parturientes. Ce travail de Thèse a été conduit pour répondre cette démarche à partir d'enquêtes été réalisées sur le terrain en Afrique noire. Ce travail a été développé à Bobo-Dioulasso, dans la sud du Burkina Faso (Figure 1.), il était constitué de deux volets : le premier pour étudier la dynamique de transmission palustre et le second pour étudier l'infection palustre chez la femme enceinte.

La dynamique de transmission palustre

L'étude de la transmission palustre est plus instructive s'il existe des fluctuations dans sa dynamique annuelle et pour cela on a choisi un biotope de savane arborée de type soudanien, dans cet écosystème, la transmission est continue avec fluctuations saisonnières. Ce travail a duré 24 mois, il a été mené en zone rurale, car pour étudier la dynamique parasitaire chez l'hôte vecteur il fallait avoir des effectifs suffisants en anophèles (pour les dissections de glandes salivaires). Les enquêtes épidémiologiques longitudinales (entomologiques et parasitologiques) ont donc été réalisées dans le village de Soumousso, à quelques dizaines de kilomètres de Bobo-Dioulasso.

L'infection palustre placentaire

Pour étudier l'infection palustre placentaire et ses effets chez la femme enceinte et les risques pour le fœtus, les effectifs étant insuffisants en zone rurale, cette étude a été réalisée dans la ville de Bobo-Dioulasso. Sur une durée de 30 mois, différentes enquêtes longitudinales parasitologiques et cliniques ont été effectuées dans les deux maternités de la ville. Les structures de santé dans cette ville font que les parturientes n'accouchent pas à domicile et toutes les couches socio-économiques urbaines se rencontrent dans ces deux maternités.

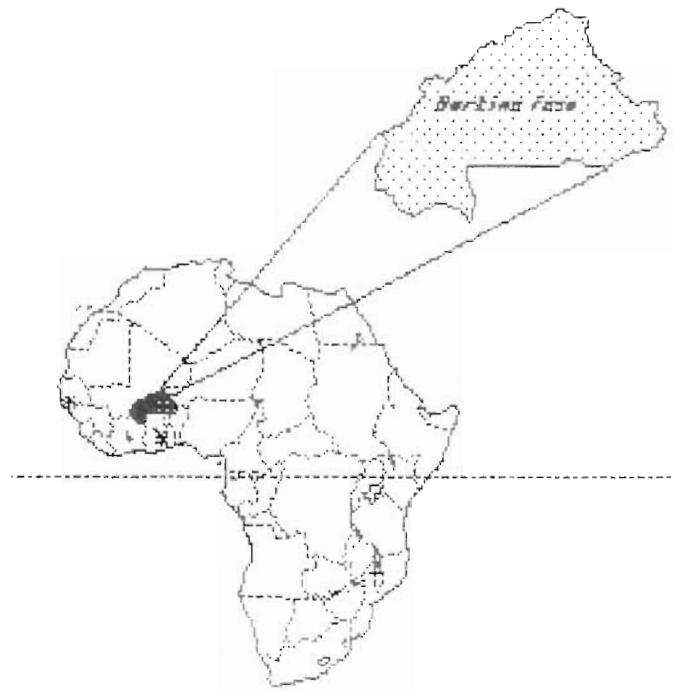
Problématique actuelle en zone d'impaludation en Afrique noire intertropicale

- la chloroquinorésistance s'est installée un peu partout,
- nécessité de redéfinir les moyens de contrôle du paludisme,
- depuis 4 ans mises en place de PNLN sous l'impulsion de l'OMS dans tous les États d'Afrique noire en zone d'impaludation

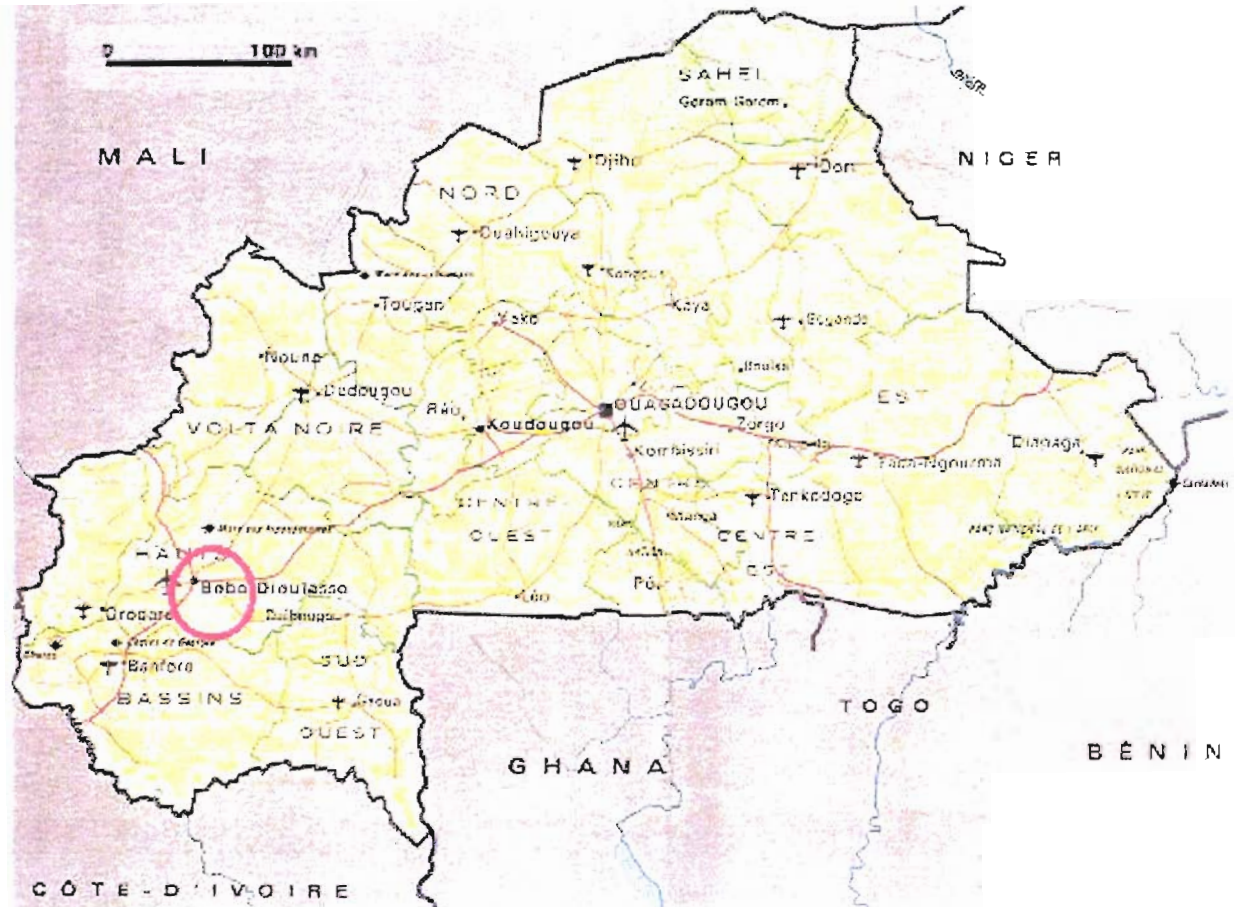
Objectifs pour les PNLN qui se mettent en place

- bien connaître la dynamique palustre pour une action efficace des PNLN,
- l'OMS et l'UNICEF donnent prioritaire l'amélioration de la santé chez la femme et chez l'enfant,
- les PNLN doivent cibler les femmes enceintes dans leurs objectifs,
 - connaître le mécanisme des risques palustres,
 - définir des stratégies pour les parturientes,

Figure 1.



Situation géographique du Burkina-Faso
et de la ville de Bobo Dioulasso



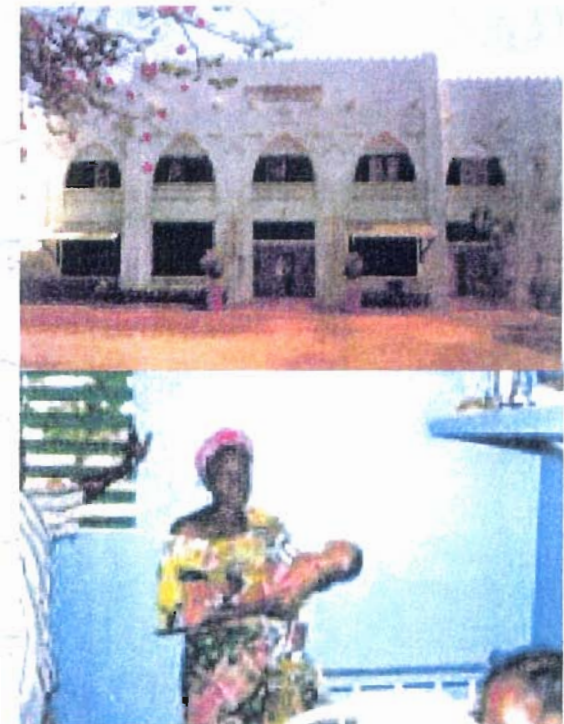


Ce travail était constitué de deux volets complémentaires

- en zone rurale pour avoir des meilleurs effectifs en anophèles
- en zone urbaine pour avoir des meilleurs effectifs en parturientes

- le premier étant une étude épidémiologique longitudinale de la transmission palustre en zone rurale dans le village de Soumouso
(étude sur 24 mois)

- le second volet a été mené dans la ville de Bobo Dioulasso
dans les deux maternités : Municipale et de l'Hôpital Général.
(étude sur 30 mois)



1^{ère} Partie

**DYNAMIQUE DE LA TRANSMISSION PALUSTRE
EN ZONE DE SAVANE ARBOREE D'AFRIQUE DE L'OUEST
(étude des interfaces anophèle-homme et homme-anophèle)**

Programme ELIPS

« Etude Longitudinale Intégrée du Paludisme à la station de Soumousso »

Unité de Recherche Paludisme
Département Santé ORSTOM

**Laboratoires du Centre Muraz
IRD (orstom) – OCCGE**

**Bobo Dioulasso
Burkina-Faso**

I./ INTRODUCTION

La dynamique homme-vecteur est simple lorsque l'on considère l'impaludation du sujet non immun vis à vis du paludisme, en théorie une seule piqûre d'anophèle infecté suffit pour la transmission du parasite à l'homme jusqu'aux manifestations cliniques du paludisme. Cependant, chez le sujet vivant en zone d'endémie, la situation devient plus complexe, la dynamique de la transmission palustre est complètement modifiée. L'immunité de prémunition perturbant la dynamique de prolifération parasitaire, il n'existe plus aucune proportionnalité directe entre la quantité de transmission et l'intensité de la maladie (Robert et al., 1985). Il n'y a pas de proportionnalité entre la quantité d'anophèles vecteurs et l'intensité de la transmission palustre, c'est ainsi que les transformations des écosystèmes vont modifier la dynamique de transmission du milieu originel.

Afin d'étudier de façon approfondie la dynamique palustre dans la région de Bobo-Dioulasso, une étude épidémiologique longitudinale sur deux années a été effectuée dans un village de zone rurale dans le sud du Burkina-Faso (programme « ELIPS »). Cette étude avait pour but d'étudier la dynamique de transmission du paludisme dans un biotope de savane arborée d'Afrique de l'ouest.

Dans cet écosystème de savane arborée humide de type soudanien, la dynamique de transmission palustre présente des fluctuations saisonnières permettant d'observer les variations des différents facteurs de l'endémicité palustre. Pour étudier la dynamique parasitaire chez l'hôte humain, nous avons choisi de suivre une cohorte d'enfant pour pouvoir étudier les fluctuations annuelles de la gamétocytémie (ce qui est impossible chez l'adulte), ces stades sexués étant permettant d'étudier l'interface hôte-vecteur. Pour étudier la dynamique entomologique des captures de nuit d'anophèles sur hôte humain étaient effectuées (sur cette cohorte) et les dissections des glandes salivaires pour la recherche de sporozoïtes permettait d'étudier l'interface vecteur-hôte.

Nous avons donc utilisé des données récoltées dans cette étude, pour observer et comparer les indices d'endémicité palustre liant l'hématozoaire, l'homme et le vecteur. A partir de ces résultats, nous allons essayer de faire apparaître les relations qui lient les maillons de la chaîne épidémiologique du paludisme pour tenter d'appréhender sa dynamique et d'en cerner les différents facteurs.

II./ MATERIEL ET METHODES

II.a - SITE ET SUJETS D'ETUDE

Les enquêtes épidémiologiques ont été réalisées dans le village de Soumousso, village de cultivateurs est situé à 60 Km au nord-est de Bobo-Dioulasso, dans un biotope de savane arborée humide (Gazin et al., 1988 ; Robert et al., 1988). Ce programme de recherche avait pour but d'intégrer les données obtenues au niveau du vecteur anophélien avec les données obtenues au niveau de l'hôte humain. A propos des enquêtes entomologiques et parasitologiques concernant l'étude du paludisme, un article particulier (Molez et al., 1996), fait le point sur les différents aspects que l'on doit aborder et tous les protocoles techniques que l'on doit respecter dans toute épidémiologie sur la dynamique palustre.

Ainsi, les données mensuelles écologiques, entomologiques et parasitologiques (voir Tableau 1.), ont été récoltées de février 1982 à décembre 1983. Cette étude longitudinale a porté sur une cohorte de 30 enfants tous de sexe masculin, dont l'âge moyen était de 6,5 ans, ces sujets étaient logés sur les lieux de l'enquête entomologique. Au début de l'enquête un dosage de la G6PD, ainsi qu'un typage de l'hémoglobine par électrophorèse a été effectué chez tous les sujets, aucun déficit enzymatique, ni aucun drépanocytaire homozygote ou hétérozygote n'a été retrouvé dans cette cohorte.

II.b - LES DIFFERENTS PARAMETRES OBSERVES

- Sur le plan climatologique

Le climat est de type soudanien, avec une saison sèche qui s'étend de novembre à mars-avril, en alternance avec une saison des pluies de mai-juin à octobre, mais la pluviométrie peut varier d'une année à l'autre, surtout pour les précipitations d'avril-mai. Dans ce village de Soumousso, les relevés de pluviométrie étaient journaliers.

- Sur le plan entomologique

L'étude longitudinale de l'activité agressive anophélienne a été réalisée avec des captureurs volontaires selon la « méthode OMS » classique (Anonyme, 1963). Chaque semaine était effectué une capture de nuit (de 17h à 06h le lendemain), dans les deux types d'habitats traditionnels (case de type Mossi avec toit en terre et case de type Bobo avec toit de paille).

Les moustiques capturés étaient placés en tubes individuels et par tranche horaire étaient effectués tri et identification des anophèles, ces derniers étaient immédiatement anesthésiés et disséqués. Les ovaires étaient examinés pour connaître le stade ovarien selon la méthode de Christophers (*in* : Gillies, 1954) et déterminer la parité par la méthode de Detinova (1963). Chez les femelles pures la dissection au microscope des glandes salivaires permettait de rechercher la présence de sporozoïtes de *Plasmodium*.

- Sur le plan parasitologique

Un examen mensuel par frottis-goutte épaisse était réalisé et après coloration au MGG, la recherche d'hématozoaires parasites était effectuée au microscope. Avec lecture de 50 champs à l'objectif x 20 pour la recherche de gamétocytes et de 100 champs à l'objectif x 50 à immersion pour la recherche des formes intra-érythrocytaires. L'identification de l'espèce plasmodiale était confirmée à l'objectif x.100. Ce protocole d'examen microscopique permettait d'examiner 100.000 globules rouges et le seuil de détection des parasites était estimé à 100 érythrocytes parasités par mm^3 de sang.

Durant les 12 premiers mois de l'enquête, des capillaires héparinés ont été prélevés pour effectuer une sérologie antipalustre en immuno-fluorescence indirecte sur antigène homologue *P. falciparum* (les dilutions utilisées sont : 1/100, 1/200, 1/600, 1/1 800, 1/5.400 et 1/16.200). Les résultats sérologiques sont exprimés en taux géométrique moyen (TGM), obtenu par le calcul de la moyenne géométrique de l'inverse des taux de dilution.

II.c - LES DIFFERENTS INDICES CALCULES

- Sur le plan entomologique

Pour chaque capture nocturne mensuelle, les indices calculés étaient :

ma = densité anophélienne agressive pour l'homme (en nombre de piqûres par homme et par nuit ($P\hat{u} / H / N$)).
 IS = indice sporozoïtique (prévalence des anophèles femelles infectés)
 h = taux d'inoculation entomologique

Le taux d'inoculation est le produit des deux premiers paramètres ($ma \times IS$), cet indice de Mac Donald reflète l'intensité de la transmission palustre (Mac Donald, 1957), en piqûres infectées par homme et par nuit.

- Sur le plan parasitologique

Deux indices parasitologiques spécifiques étaient recherchés chaque mois :

IP = indice plasmodique
 (prévalence parasitaire, témoin de l'infection palustre)
 IG = indice gamétocytaire
 (il est le reflet de l'infectivité de l'homme pour l'anophèle)

Les enfants de la cohorte n'ayant pas encore acquis le niveau de prémunition antipalustre que l'on trouve chez les adultes (Boudin et al., 1991), sont théoriquement plus sensibles aux variations saisonnières de la transmission (Robert et al., 1988), un suivi dynamique de l'indice gamétocytaire a ainsi été étudié chez eux.

III./ RESULTATS

III.a - DONNEES ECOLOGIQUES

La moyenne annuelle des températures a été de 26,8°C, avec un maxima moyen à 26°C en mars-avril et un minima moyen à 17°C en décembre-février (la température minimum nocturne pouvant atteindre 14°C). Aux extrémités de la saison des pluies, les précipitations étaient très irrégulières et seuls les mois de juillet et août ont été arrosés assez régulièrement. La pluviométrie annuelle a varié de 1.000 à 1.300 mm, la deuxième année de cette étude la pluviométrie beaucoup plus faible et moins étalée dans le temps que la première année (Graphe 1.) va rendre plus difficile l'analyse des résultats.

III.b - DONNEES ENTOMOLOGIQUES

Les vecteurs anophéliens ont été bien étudiés dans les environs de ce village de Soumouso (Robert et al., 1989). L'enquête entomologique longitudinale a totalisé 22 nuits de capture sur homme et trois espèces anophéliennes principales sont retrouvées avec une fréquence inégale selon la saison (Tableau 1. et Graphe 2.).

- *Anopheles gambiae* :

vecteur majeur du paludisme, il est présent pratiquement toute l'année, sauf parfois en avril. Deux pics de forte densité de population sont rencontrés en début et en fin de saison des pluies, avec un maximum de densité agressive en septembre. Du fait de l'existence d'un complexe d'espèces nous allons parler de *An. gambiae sensu lato*, bien que nous sachions qu'à Soumouso le cytotype *An. gambiae* « forme Savane » est dominant devant *An. gambiae* « forme Mopti » et *An. arabiensis* (Robert et al., 1989).

- *Anopheles funestus* :

cette espèce anophélienne est la deuxième en ordre d'importance. Elle est retrouvée sur une courte période, principalement de septembre à décembre, avec un maximum de densité agressive en octobre. Il est classique d'observer les pics densité agressive de cet anophèle succéder à ceux de l'espèce précédente. Cela s'explique par l'évolution écologique des gîtes, *An. gambiae sl.* préfère les eaux dont la surface est très ensoleillée et *An. funestus* préférant les gîtes dont la végétation est érigée (provoquant de l'ombre en surface). Ainsi ce vecteur secondaire succède à *An. gambiae sl.* dans ce biotope, dès la mi-saison des pluies.

- *Anopheles nili* :

c'est une espèce anophélienne rencontrée de façon épisodique en Afrique noire, sur une courte période en fin de saison des pluies, mais toujours à des densités extrêmement faibles.

Les deux principales espèces anophéliennes vectrices du paludisme dans cette région de savane d'Afrique de l'ouest sont *An. gambiae sl.* et *An. funestus*. A la fin de la saison sèche, l'espèce anophélienne *An. gambiae sl.* est la première à réapparaître, tout d'abord lors des premières pluies en avril-mai et plus fortement en juillet. Ensuite les densités anophéliennes agressives vont diminuer à la pleine saison des pluieuses (surtout pour *An. gambiae sl.*), suite aux pertes en population larvaire par lessivage des gîtes par les fortes pluies de pleine saison. Enfin avec la diminution des précipitations en septembre-octobre, survient un dernier pic de densité anophélienne, où les deux principales espèces vectrices *An. nili* et *An. funestus* (dont les effectifs sont plus importants), sont étroitement associées à *An. gambiae sl.*

III.c - DONNEES PARASITOLOGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES

L'hématozoaire *P. falciparum* est la principale espèce plasmodiale rencontrée (Tableau 1.), *P. malariae* a été rencontré (moins de 5%) et plus rarement *P. ovale* (moins de 1%). Ces deux dernières espèces plasmodiales n'ont pas été prises en considération dans l'analyse de l'étude, d'autant qu'elles étaient le plus souvent retrouvées en association avec *P. falciparum*. La dynamique des indices parasitaires apparaît sur le Graphe 3., l'indice plasmodique va varier du simple au triple, avec des maxima en saison des pluies et sa décroissance va s'effectuer lentement jusqu'aux minima de saison sèche, l'indice gamétocytaire n'est jamais nul et il montre une grande variation annuelle. La dynamique épidémiologique apparaît très bien en 1982, par contre en 1983 le déficit pluviométrique a considérablement altéré les observations de la première année.

La sérologie antipalustre (en IFI), n'a été étudiée que sur une année (Tableau 1.) et il n'est donc pas possible d'en dégager une rythmicité saisonnière. D'autre part, il s'agissait de taux moyens, reflétant donc peu les variations individuelles, mais plutôt la dynamique au niveau de la population étudiée. Deux maxima ont été retrouvés en septembre et décembre, en fin de période de transmission intense (en fin de saison des pluies), en accord avec de précédentes études réalisées en zone rurale dans les environs de Bobo-Dioulasso (Gazin et al., 1988).

III.d - LA DYNAMIQUE VECTEUR ---> HOMME

- Remarques sur la dynamique anophélienne

L'étude étant axée sur la dynamique de la transmission, l'agressivité anophélienne va être étudiée dans une optique épidémiologique, aussi la distinction des espèces anophélienne ne sera pas prise en considération. L'importance de la densité aggressive apparaît nettement en relation avec les précipitations (Graphe 4.) et les variations du pourcentage de femelles nullipares va suivre les pics d'émergence de densité anophélienne. Ces résultats sont en accord avec d'autres études effectuées en zone rurale de savane arborée des environs de Bobo-Dioulasso (Gazin et al., 1988 ; Robert et al., 1988).

La courbe de densité anophélienne est même légèrement retardée d'un mois pour le premier pic au début de saison des pluies, lors de la remise en eau des gîtes. Cette courbe est retardée de deux mois pour le pic principal qui correspond à la diminution des pluies et à l'arrêt lessivage des gîtes. Le pic de femelles nullipares après l'arrêt des précipitations s'explique par l'arrêt de la déperdition larvaire causée par les pluies. La fin de saison des pluies, en plus de favoriser un rendement maximum des gîtes (avant le début de leur assèchement), va favoriser aussi une meilleure survie des imagos (fin des précipitations et hygrométrie favorable), permettant à la population anophélienne infectante (Graphes 4 et 5.) d'être au maximum de ses possibilités de transmission.

- Remarques sur la dynamique parasitaire

En comparant la dynamique de la densité anophélienne agressive (ma) et de la parasitémie circulante (IP) (Tableau 1.), on constate que les pics d'indice plasmodique précèdent nettement les pics de densité agressive du vecteur (même si pour chacune on retrouve les maxima de saison des pluies et les minima de saison sèche).

La densité anophélienne ne reflète donc pas le rythme et l'intensité de la transmission anophélienne. La dynamique de l'infection par le moustique apparaît mieux suggérée par la comparaison des courbes du taux d'inoculation et de l'indice plasmodique (Graphe 6.). Si cette inoculation était le facteur moteur essentiel de l'endémicité palustre, l'indice plasmodique subirait les variations du taux d'inoculation. Or, même si les deux courbes ont bien leur maximum en fin de saison des pluies, les pics de taux d'inoculation n'entraînent pas de variation sensible ou retardée de l'indice plasmodique (cela apparaît nettement en 1982 et moins en 1983).

III.e - LA DYNAMIQUE HOMME --->VECTEUR

- La question du réservoir de parasites

L'infection du vecteur anophélien par l'homme est reflétée par la comparaison des courbes de parasitémie humaine avec la parasitémie chez l'anophèle. Chez l'homme, la présence des formes parasitaires sexuées (gamétocytes) est en relation avec l'infection de l'anophèle (Graphe 3.), cette corrélation positive entre densité gamétocytaire et taux d'infection des glandes salivaires de anophèle a été démontrée par de nombreux auteurs (Jeffery et Eyles, 1955 ; Coz et Picq, 1972).

La densité en femelles nullipares est le reflet de la population anophélienne jeune (émergente) non épidémiologiquement dangereuse ; la transmission étant assurée par les femelles pares, les seules pouvant être infectées (car elle ont eut au moins un repas sanguin). Nos résultats (Tableau 1.) ne montrent pas de relation bien nette entre et le vieillissement de la population anophélienne (pourcentage de pares) et l'indice sporozoïtique (IS). Si on peut dire

que l'infection de l'anophèle dépend clairement et directement de la parasitémie circulante chez l'homme (Graphe 3.), mais que l'inverse n'est pas vrai surtout avec les fluctuations de l'indice plasmodique chez l'homme en saison sèche lorsque la transmission anophélienne est très basse. On est tenté de conclure, que le « centre de gravité » de la dynamique palustre se situe chez l'homme qui est le réservoir de parasites.

- Remarques sur la dynamique gaméocytaire

Concernant les données sérologiques (Tableau 1.), la dynamique des taux géométriques moyens est en relation inversement proportionnelle avec les fluctuations de la prévalence gaméocytaire. La dynamique de l'indice plasmodique apparaît par contre insensible aux variations de taux sériques des anticorps anti-palustres, même si les maxima en IFI correspondent aux minima de l'autre et inversement. L'étude de cette dynamique de l'hématozoaire parasite est limitée du fait de la mauvaise connaissance que nous possédons sur le rôle et le type des anticorps détectés par cette simple IFI anti-palustre.

Dans cette étude, on a remarqué une apparente sensibilité des gaméocytes aux taux circulants d'anticorps révélés en IFI, on peut donc évoquer une sensibilité des gaméocytes aux anticorps détectés par cette méthode (cette technique utilise de l'antigène *P. falciparum* de stade intra-érythrocytaire asexué).

On a remarqué que dans cette zone de transmission palustre du Burkina Faso que la prévalence gaméocytaire chez les enfants de moins de six mois était élevée (Boudin et al., 1991), ce qui peut paraître surprenant, quand on la compare aux faibles indices plasmodiques à cet âge. On pense que les gaméocytes matures en position intra-érythrocytaires présentent plusieurs niveaux de protection (Boudin et al., 1991), aussi il se pourrait que l'immunité de prémunition antipalustre agisse au niveau de l'évolution du mérozoïte et qu'elle ait un effet d'inhibition sur sa différenciation en stade sexué (en gaméocyte), par rapport au stade asexué.

D'autres études menées dans ce biotope de transmission palustre d'Afrique de l'ouest montrent que l'homme adulte (possédant une immunité de prémunition antipalustre) est rarement porteur de gaméocytes circulants (Boudin et al., 1991) et ce dès l'âge de 14/16 ans. De même, chez les parturientes, on voit réapparaître des gaméocytes circulants autour du 6ème mois de grossesse, lorsqu'elles présentent une diminution de leur immunité avec leur gestation.

IV./ DISCUSSION

IV.a - A PROPOS DES STADES ASEXUES CIRCULANTS

On sait que les prévalences gaméocytaires ont une cinétique pas vraiment rythmée par les saisons (Gazin et al., 1988), avec des poussées aussi bien en saison des pluies (maximum de

transmission), qu'en saison sèche (alors que la transmission est apparemment inexistante). Dans nos observations, on observe une remontée des indices parasitaires (plasmodiques et gamétoctaires) observée en période de basse transmission palustre (Graphe 3.), en dehors de toute densité agressive anophélienne (en mars la première année, en février la seconde année).

Cette fluctuation n'a pas d'explication épidémiologique en terme de dynamique parasitaire, elle pourrait peut être s'expliquer en termes de souches plasmodiales différentes en saison sèche avec une dynamique du parasite nécessitant d'attendre le retour des vecteurs avec les pluies. Au Sénégal, en zone rurale, dans un biotope de savane arborée de type soudanien où la transmission est plus franchement interrompue en saison sèche, le même type d'observation a été effectué (Ba, 1995). Dans ce village de Ndiop on remarque également chez l'homme, une remontée des densités parasitaires en saison de basse transmission (en février-mars), un mois avant la reprise de la dynamique vectorielle qui redémarre avec l'arrivée des pluies.

IV.b - A PROPOS DES STADES SEXUES CIRCULANTS

D'après les remarques précédentes on va s'intéresser au stade gamétoctaire pour essayer d'affiner cette recherche d'une dynamique liant la parasitémie humaine avec l'infection anophélienne. Le gamétoctaire étant le lien obligatoire entre l'infection circulante humaine et l'infection par les sporozoïtes des glandes salivaires de l'anophèle, la dynamique gamétoctaire devrait s'articuler avec celles de l'indice plasmodique et de l'indice sporozoïtaire. Ces deux dernières se ressemblent (Tableau 1.), elles présentent des maxima communs, cela montre bien qu'il existe une corrélation directe entre l'infection sporozoïtaire et la parasitémie circulante intra-érythrocytaire.

La dynamique sporozoïtique suit la dynamique plasmodique plus que la dynamique gamétoctaire et la dynamique des Ig.G est très différente de ces deux dynamiques parasitaires (Tableau 1.) ; on ne sait pas si l'on doit incriminer une immunité anti-gamète spécifique pour expliquer cette absence de similitude.

IV.c - A PROPOS DE LA DYNAMIQUE DE TRANSMISSION

La circulation de l'hématozoaire s'articule sur trois événements qui se succèdent dans le temps entre le vecteur et l'hôte, décrivant la dynamique parasitaire. Il s'agit tout d'abord du maxima de densité anophélienne agressive, du maxima de gamétoctémie circulante (stade infectant pour le vecteur) et du maxima de population anophélienne agressive porteuse de sporozoïtes dans ses glandes salivaires.

Dans nos résultats (Tableau 1. et Graphes 3. et 6), on remarque que la dynamique palustre est plus rapide en fin de saison de transmission. Nous pouvons constater qu'il existe une « dynamique de début de saison des pluies » (première dynamique) : en août (début des

pluies), le premier pic d'infection anophélienne (h) est la conséquence du pic de gamétocytemie de mai (Graphes 3.) et il est placé après le maxima de l'indice plasmodique :

→ nous avons donc **une dynamique** : « **IG / IP → h** » **en début des pluies**

Par la suite on observe « dynamique de « fin des pluies » (seconde dynamique) : le second pic d'infection anophélienne (h) en fin des pluies, survient après le second pic de gamétocytemie de août-sept. (Graphes 3.) et il est placé cette fois avant le second pic de l'indice plasmodique :

→ nous avons donc **une dynamique** : « **IG → h → IP** » **en fin des pluies.**

Cette observation est à rapprocher au fait que dans cet écosystème de savane arborée, en début de saison des pluies c'est *An. gambiae* qui est vecteur majeur, alors qu'en fin de saison des pluies c'est *An. funestus* qui est vecteur majeur (Graphe 2.) du fait du changement de biotope larvaire. Le changement de vecteur pourrait être un élément pour expliquer cette différence de dynamique de transmission aux niveaux des interfaces homme-vecteur et vecteur-homme.



Tableau 1. : résultats entomologiques et parasitologiques à Soumouso

(Enquête longitudinale de février 1982 à décembre 1983)

CAPTURES		Fevr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	Janv.	Fevr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
<i>An. gambiae</i>	ma	-	4,9	2,8	12,53	4,16	5,8	13,52	16,47	7,03	2,12	0,45	0,916	2,22	0,656	0,28	1,36	5,6	2,6	1,75	3,47	1,09	0,527	0,25
	h	-	0,196	0,042	0,376	0,541	0,87	2,298	0,659	0,773	0,148	0	0,029	0,064	0,031	0	0	0,437	0,515	0,306	0,305	0,032	0	0
	I.S.	-	0,04	0,015	0,03	0,13	0,15	0,17	0,04	0,11	0,07	0	0,032	0,029	0,047	0	0	0,078	0,198	0,175	0,088	0,029	0	0
	NP (%)	-	12,1	21	34,3	30,1	18,3	23,1	33,8	15,1	17,8	10	14,3	32,6	25	25	24,3	14,3	17,3	14,5	24,8	12,9	0	12,5
<i>An. funestus</i>	ma	-	0,09	0,03	0,71	2,36	6,3	13,05	16,3	18,87	2,93	0,82	0,416	0,187	0,03	0	0	0,25	1,53	4,42	28,08	12,25	5,86	0,138
	h	-	0	0	0	0,26	0,441	0,522	0,326	1,132	0,557	0,107	0	0,047	0	0	0	0	0,096	0,141	0,505	0,184	0,029	0,028
	I.S.	-	0	0	0	0,11	0,07	0,04	0,02	0,06	0,19	0,13	0	0,25	0	0	0	0	0,063	0,032	0,018	0,015	0,005	0,2
	NP (%)	-	0	0	31,2	25,4	34	23,1	24,7	10,8	5	10,3	44,4		0	0	0	0	16,7	9,3	24,1	22,2	9,5	5,46
<i>A. nili</i>	ma	-	0	0	0	0,44	3,11	5,69	8,13	1,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0,094	0,58	3,8	0,468	0	0
	h	-	0	0	0	0	0,277	0,33	0,098	0,039	0	0	0	0	0	0	0	0	0,006	0	0,141	0	0	0
	I.S.	-	0	0	0	0	0,089	0,058	0,012	0,024	0	0	0	0	0	0	0	0	0,067	0	0,037	0	0	0
	NP (%)	-	0	0	0	11,11	14,7	7,5	13,5	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,8	10,9	16,6	0	0
cumul anophèles	ma	-	4,99	2,83	13,24	6,96	15,21	32,26	40,9	27,52	5,05	1,27	1,332	2,407	0,686	0,28	1,36	5,85	4,224	6,75	35,35	13,81	6,387	0,388
	h	-	0,196	0,042	0,376	0,8	1,588	3,15	1,082	1,944	0,705	0,107	0,029	0,111	0,031	0	0	0,437	0,617	0,448	0,951	0,215	0,029	0,028
	I.S.	-	0,04	0,015	0,03	0,24	0,309	0,268	0,072	0,194	0,26	0,13	0,032	0,279	0,047	0	0	0,078	0,328	0,207	0,143	0,044	0,005	0,2
	NP (%)	-	12,1	21	65,5	66,61	67	53,7	72	44,9	22,8	20,3	58,7	32,6	25	25	24,3	31	26,6	43,4	57,9	39	5,46	12,5
BIOLOGIE		Fevr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	Janv.	Fevr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
<i>P. falciparum</i>	I.P.	35,1	54,5	56,1	56,4	70,5	77,2	72	66,6	53,3	56,3	41,4	50	48,9	43,2	26,9	21,4	57,5	62,1	50,5	60	38,3	67,1	-
	I.G.	1,75	7,3	4,9	28,2	19,6	10,6	14,6	13,3	4	7,04	1,42	2,4	20	8,1	5,8	2,4	5	16,6	18,1	4,6	13,3	7,8	-
<i>P. malariae</i>	I.P.	3,5	0	12,2	2,5	1,9	9,1	9,3	13,3	1,3	4,2	2,85	2,4	6,7	5,4	7,7	0	2,5	4,5	3	3,1	6,6	9,4	-
	I.G.	0	0	7,3	0	1,9	6	2,6	5,3	1,3	1,4	0	0	0	5,4	0	0	0	1,8	0	0	1,6	0	-
IFI	TGM	455,6	848,8	875,3	732,6	314,5	786,1	1080	1549	1206	1091	1859	1166	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PLUIES		Fevr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	Janv.	Fevr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
en mm		32,8	9,4	136,7	123,4	160,4	235,5	139,7	189,4	95,9	0,9	0	0	0	1,7	19,1	85,2	103,7	206,9	172,9	112,7	0	0	0

ma = nombre de piqûres d'anophèles par homme et par nuit

NP = pourcentage de nullipares dans la population anophélienne (obtenu par dissection des ovaires)

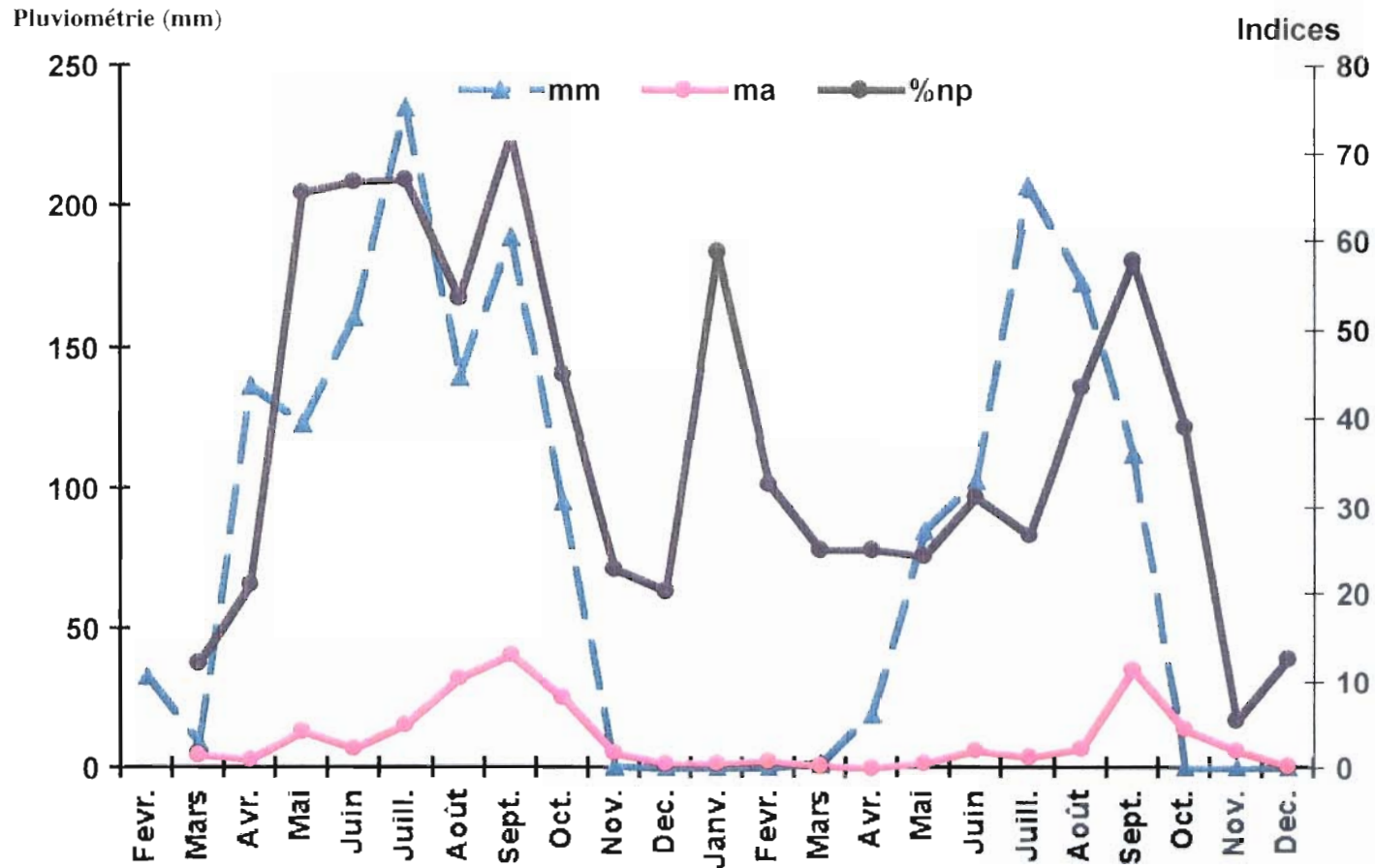
IP = indice plasmodique (parasitémie circulante dans la cohorte d'enfants)

IG = indice gamétocytaire (parasitémie circulante dans la cohorte d'enfants)

IS = pourcentage d'anophèles femelles infectées par des sporozoïtes (obtenu en microscopie par dissection des glandes salivaires)

h : aux d'inoculation anophélien quotidien en nombre de piqûres infectantes par homme et par nuit, (h est le produit de IS avec ma)

GRAPHE 1. : pluviométrie (saisons) et agressivité anophélienne (ma)



ma = nombre de piqûres d'anophèles par homme et par nuit
(densité agressive anophélienne en capture sur homme)

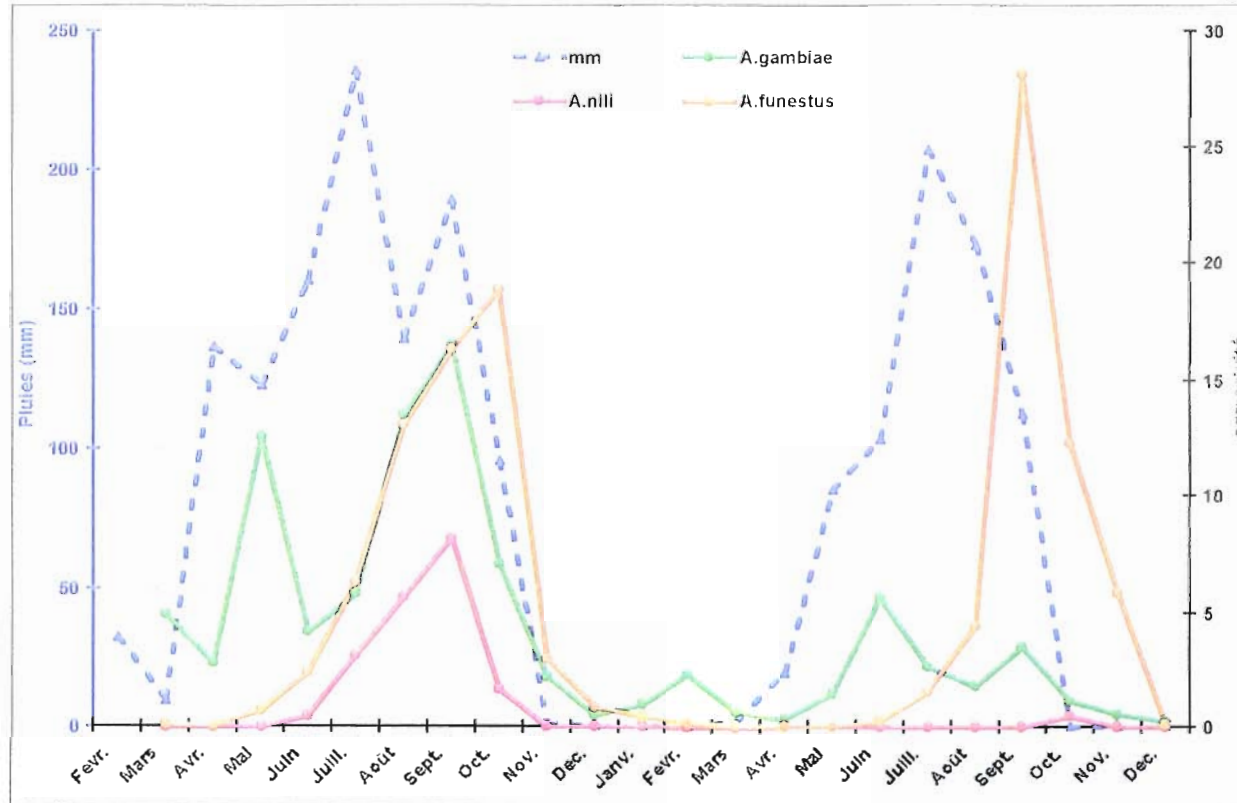
%np = pourcentage de nullipares dans la population anophélienne
(permet d'estimer l'âge de la population anophélienne agressive)

La densité anophélienne augmente avec les pluies d'avril, en août le pourcentage d'éclosions d'anophèles (% de np) va diminuer à cause du lessivage des gîtes avec le pic de pluies de juillet. En septembre la densité de population agressive (ma) est maximale, dès ce moment la population anophélienne va « vieillir » (chute du % de np et survie augmentée), elle va devenir épidémiologiquement dangereuse.

GRAPHE 2. : pluviométrie et saisonnalité des espèces anophéliennes agressives

Pluviométrie (mm)

Agressivité (ma)



(ma : densité agressive anophélienne = nombre de piqûres par homme et par nuit)

- ma pour l'espèce *Anopheles gambiae* s.l. = vecteur majeur du paludisme en Afrique inter-tropicale
- ma pour l'espèce *Anopheles funestus* = vecteur majeur en fin de saison des pluies
- ma pour l'espèce *Anopheles nili* = sans importance épidémiologique

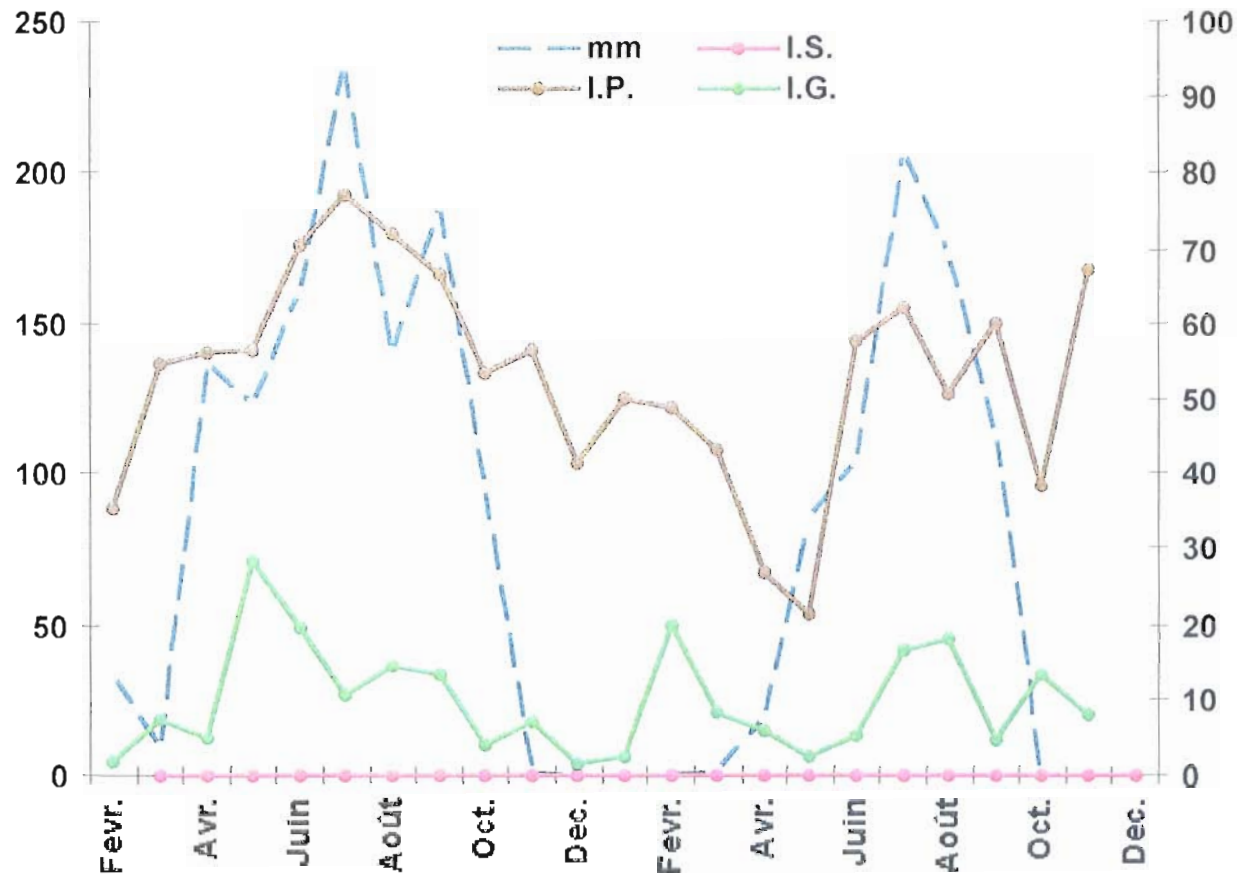
Anopheles gambiae présente deux pics de densité : en début des pluies (remise en eau des gîtes) et en fin de saison des pluies (quand le lessivage des gîtes et des larves qu'elles contiennent s'arrête avec la diminution des pluies).

Anopheles funestus est fortement présent en fin de saison des pluies, quand la végétation a repoussé dans les gîtes (car ses larves préfèrent la surface du gîte soit ombragée)

GRAPHE 3. : pluviométrie (saisons), transmission palustre et indices parasitologiques

Pluviométrie (mm)

Indices (%)



IP = indice plasmodique (cumul des espèces plasmodiales)
 IG = indice gamétocytaire (cumul des espèces plasmodiales)

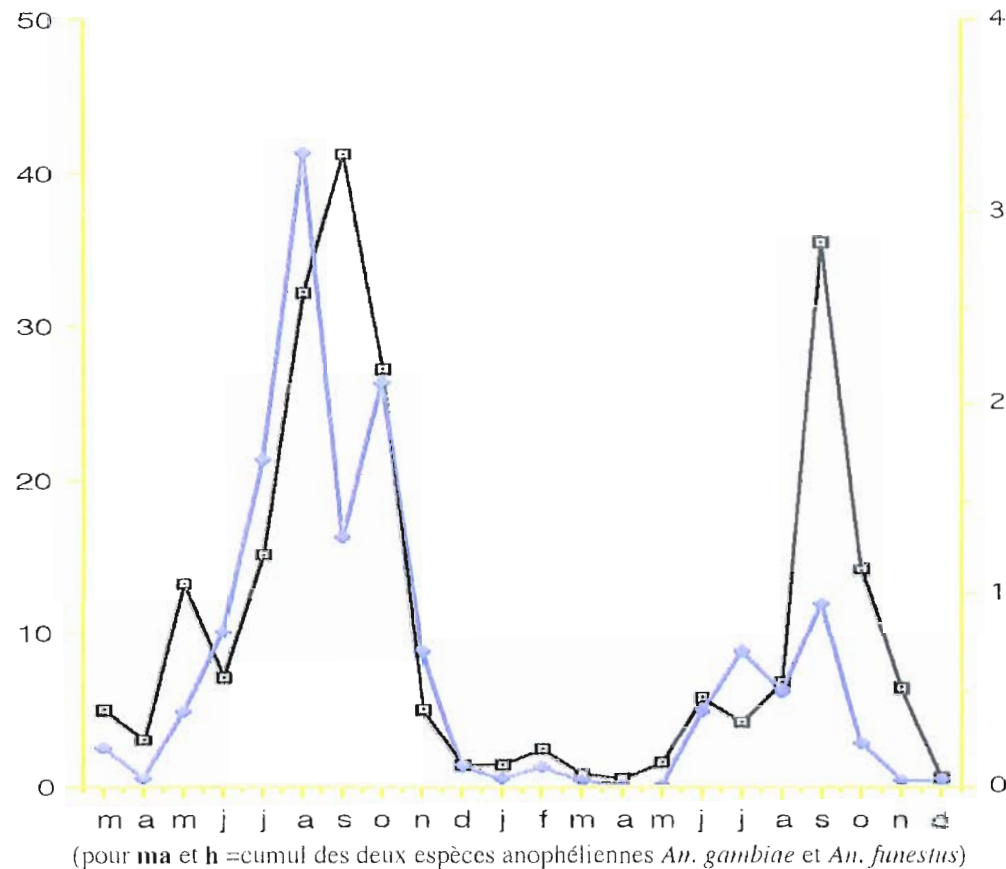
IS = indice sporozoïtique : pourcentage d'anophèles femelles infectées
 (indice obtenu en microscopie par dissection des glandes salivaires)

On observe une « saisonnalité » de l'indice plasmodique en relation avec la pluviométrie

GRAPHE 4. : saisonnalité de la transmission palustre : ma & h

Densité agressive anophélienne (ma)
en nombre de piqûres par homme et par nuit

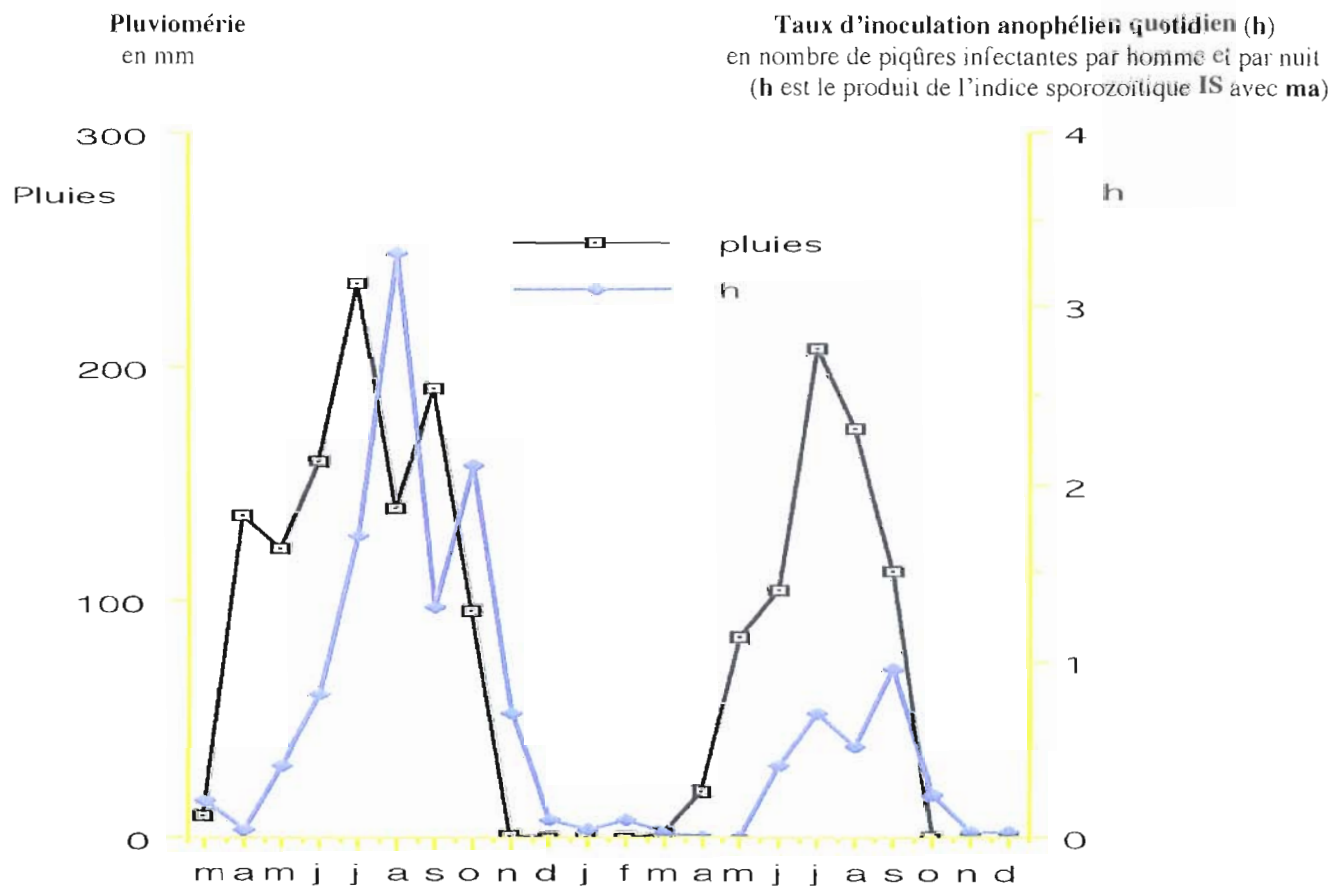
Taux d'inoculation anophélien quotidien (h)
en nombre de piqûres infectantes par homme et par nuit
(h est le produit de l'indice sporozoïtique **IS** avec **ma**)



Etude des graphes

de la première année : Le premier pic de transmission (h) est la conséquence du pic des IG en mai (GRAPHE 3.), ensuite, le second pic d'infection anophélienne est situé après le maxima de densité agressive (ma), c'est à dire quand la population anophélienne va vieillir (quand le % de nullipares baisse : GRAPHE 1) et elle devient épidémiologiquement dangereuse.

GRAPHE 5. : saisonnalité de la transmission palustre : pluies & h



Etude des graphes

(saison des pluies et saison sèche)

(pour h = cumul des deux espèces anophéliennes *An. gambiae* et *An. funestus*)

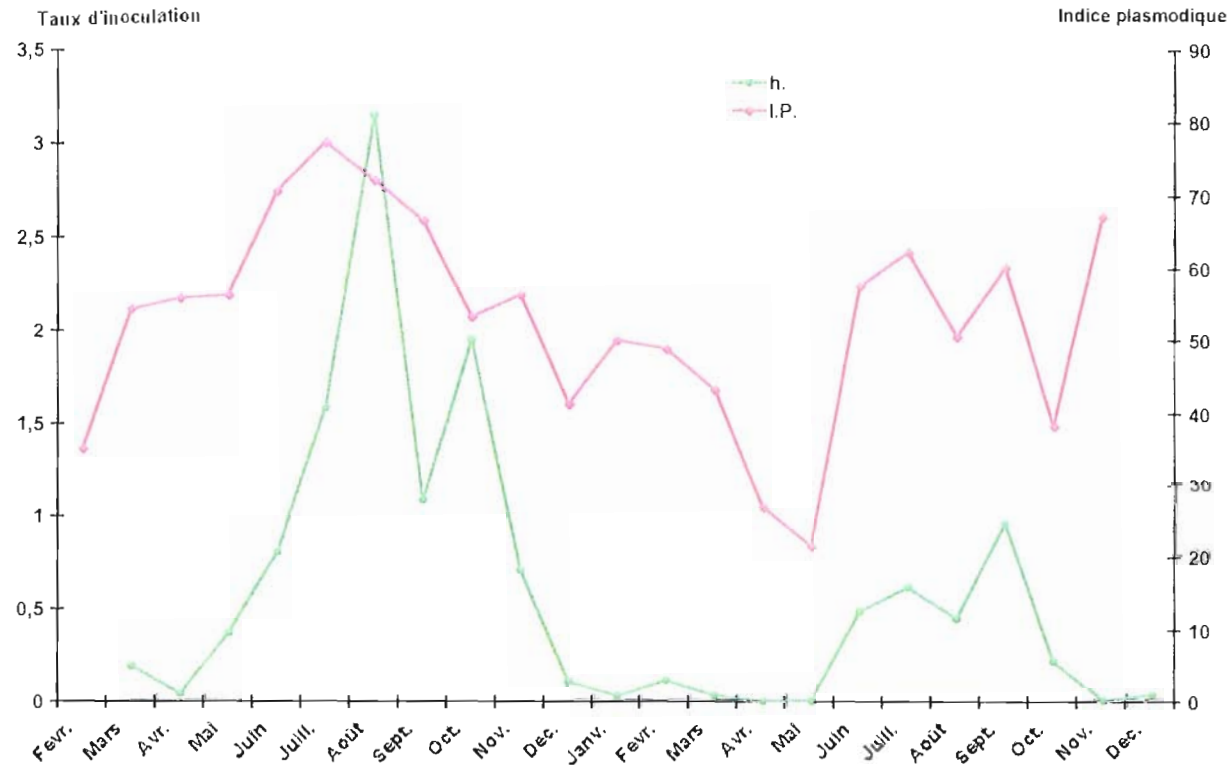
de la première année :

Les deux maxima d'inoculation anophélienne (h) sont situés après chacun des deux pics de pluviométrie et ils correspondent aux deux baisses du % de nullipares dans la population anophélienne (GRAPHE 1.). Quand les pluies diminuent (août et octobre) la population anophélienne va vieillir (le taux de survie des anophèles augmente) et elle devient épidémiologiquement dangereuse. La durée de vie de l'anophèle est suffisante pour qu'il ait le temps de piquer l'homme au moins deux fois (pour s'infecter au départ et pour infecter par la suite).

GRAPHE 6. : saisonnalité de la transmission palustre : h & IP

Taux d'inoculation anophélien quotidien (h)
en nombre de piqûres infectantes par homme et par nuit
(h est le produit de l'indice sporozoïtique IS avec ma)

Indice plasmodique IP (%)
(IP : cumul des différentes espèces plasmodiales)



Etude des graphes de la première année :

première dynamique, du « début des pluies » : en août (début des pluies), le premier pic d'infection anophélienne (h) est la conséquence du pic de gamétocytemie de mai (GRAPHE 3.) et il est placé après le maxima de l'IP (« dynamique : IG, IP, h »)

seconde dynamique, de « fin des pluies » : le second pic d'infection anophélienne (h) en fin des pluies, survient après le second pic de gamétocytemie de août-sept. (GRAPHE 3.) et il est placé cette fois avant le second pic de l'IP (« dynamique : IG, h, IP »)

2^{ème} Partie

ETUDE DE L'INFECTION PALUSTRE PLACENTAIRE

EN ZONE URBAINE DE BOBO-DIOULASSO

(risques chez la mère et chez l'enfant et stratégie antipalustre)

Programme ayant fait l'objet d'une « Décision d'Aide »
de la part du Ministère de la Recherche et de l'Industrie.

(Décision d'Aide et Financement N° 356 83L 1222)

Unité de Recherche Paludisme
Département Santé ORSTOM

**Laboratoires du Centre Muraz
IRD (orstom) – OCCGE**

**Bobo Dioulasso
Burkina-Faso**

I./ INTRODUCTION

Ce travail a été dans la ville de Bobo-Dioulasso pour étudier l'infection palustre chez la femme enceinte, il a succédé au premier volet réalisé à Soumouso, centré sur le vecteur anophélien pour étudier la dynamique de transmission palustre dans cet écosystème de savane avec fluctuations saisonnières, son fonctionnement est indispensable au PNLP pour conduire sa stratégie de contrôle du paludisme.

Le second pôle d'intérêt du PNLP étant la parturiente qui est très exposée au paludisme, l'infection palustre placentaire chez la femme enceinte ne pouvait être étudiée en zone rurale, les effectifs étant insuffisants. Cette étude a donc été réalisée dans les deux maternités de la ville de Bobo-Dioulasso, les structures de santé de cette agglomération font que les parturientes n'accouchent pas à domicile et toutes les couches socio-économiques urbaines se rencontrent dans ces deux maternités.

L'infection placentaire par l'hématozoaire *Plasmodium* n'est pas un fait rare en Afrique noire, sud-saharienne où la transmission du paludisme est toujours importante. Si environ 10% des femmes parturientes présentent un placenta parasité au moment de l'accouchement, le paludisme congénital chez le nouveau né est cependant peu fréquent. Par contre l'infection palustre a un effet néfaste sur le développement fœtal et nous avons une grossesse à risques (avortement, prématurité, déficit pondéral).

Un des buts de ce travail de recherche est d'essayer de savoir pourquoi la parasitémie à *P. falciparum* ne se développe pas chez le nouveau né (même si l'on rencontre parfois des trophozoïtes dans le sang de cordon) et de comprendre quels sont les mécanismes de résistance du jeune enfant africain à l'infection palustre. Cette étude du « couple mère-enfant » est donc nécessaire pour une meilleure compréhension de la dynamique immunitaire materno-transmise et de la dynamique fœtale soumise à la parasitémie placentaire.

On recherchera dans les parasitémies placentaires les fluctuations observées dans l'étude de la dynamique palustre qui ont fait l'objet du premier volet de recherches.

A partir des résultats obtenus, il faudra définir une stratégie de chloroquino-protection chez les femmes enceintes et chez le nouveau né qui sont les principaux sujets à risque (Menendez, 1995) en zone d'endémie palustre.

II./ MATERIEL ET METHODES

II.a - SITE ET SUJETS D'ETUDE

Concernant cette étude particulière sur le « couple mère-enfant », une partie des résultats ont fait l'objet de plusieurs publications ou communications scientifiques :

Molez J-F., Carnevale P., Traore S.G., Sanou J.M., Bazie A.J. et Diagne M. - Données sur l'association paludisme et grossesse fournies par l'examen de 215 placentas dans deux maternités de Bobo- Dioulasso. *XXIIIème Conf. Techn. de l'OCCGE (04-83)*, Ouagadougou, Burkina-Faso, 1983.

Brandicourt O., Carnevale P., Baudon D., **Molez J-F.**, Gazin P., Danis M., Duflo B. et Gentilini M. - Influence de la chimioprophylaxie ou de la chimiothérapie par la chloroquine sur l'acquisition des anticorps fluorescents antipalustres en zone de savane. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1987 ; 67 (1) : 17-22.

Molez J-F., Bosseno M-F., Carnevale P., Traoré S.G. et Guienhoun O. - Infection placentaire itérative à *Plasmodium falciparum* au cours de deux grossesses successives. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1989 ; 82 (3) : 373-380.

Devoucoux R., Hurpin C., Baudon D., **Molez J-F.**, Roux J., Guilloud-Bataille M., Carnevale P. and Feingold J. - Population genetics of abnormal haemoglobins in Burkina Faso, West Africa. *Ann. Human Biology* , 1991 ; 18 (4) : 295-302.

Molez J-F., Bosseno M-F., Traoré S.G., Carnevale P. et Gazin P. - Infection placentaire et paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Cahiers Santé*, 1992 ; 2 : 176-179.

Gazin P., Compaoré M-P., Hutin Y. et **Molez J-F.** - Infection palustre du placenta par les *Plasmodium* en zone d'endémie. Les facteurs de risque. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1994 ; 87 : 97-100.

Molez J-F., Bosseno M-F. et Traoré S.G. - Poids de naissance, infection palustre placentaire et déficit pondéral saisonnier à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Malaria*, 1995 ; 3 : 4-8.

Molez J-F. et Bosseno M-F. - Avaliação da transmissão da malária pela aplicação de lâminas na placenta em maternidades. *XXXVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (24-28.02.02)*, Iguazu, Brasil, 2002.

Ce travail a duré 30 mois et il a été essentiellement effectué dans les deux maternités de la ville avec la participation active des Sages-Femmes et des « matrones » dans les salles d'accouchement de :

* **maternité de l'Hôpital Général de Bobo-Dioulasso :**

avec les Dr Zei et le Dr Traoré, médecins gynécologues accoucheurs

*** maternité de la Clinique Municipale Ouattara Guimbi :**

avec le concours du médecin-chef, le Dr Sanou.

Le dépistage de la parasitémie placentaire s'est fait sur frottis (apposition placentaire, au moment de la délivrance), simultanément on a pratiqué un frottis-goutte épaisse à la mère (pulpe du doigt) pour rechercher une éventuelle parasitémie sanguine circulante. Ce travail comprenait d'une part une enquête longitudinale de dépistage de l'infection placentaire et d'autre part plusieurs séries d'enquêtes particulières selon les époques de l'année. Comme à Bobo-Dioulasso la transmission palustre est permanente, mais elle présente des grandes variations saisonnières dans son intensité, ce qui explique cette durée dans le temps de cette enquête sur le paludisme chez la femme enceinte et chez le nouveau né.

II.b - PROTOCOLES D'ENQUETES

Ce travail d'enquête est réalisé au moment de la délivrance, une fiche d'enquête et de renseignement était réalisé pour chaque placenta examiné (voir Fiche 1. et Fiche 2.) :

- Fiche d'enquête :

ENQUETE PARASITOLOGIQUE

- PLACENTA :** - application sur lame
- PARTURIENTE :** - frottis / goutte épaisse
 - nom, âge, ethnie, résidence (rurale ou urbaine)
 - histoire génitale :
 antécédents, nombre de gestes et d'avortements
 et nombre d'enfants vivants ou morts
 - histoire de la grossesse :
 chimioprophylaxie nombre et dates des accès
 fébriles, chimiothérapie ou autres traitements
- NOUVEAU NE :** - frottis-goutte épaisse (sur sang de cordon à J.0)
 - sexe et poids de naissance
 - prématurité (selon estimation de l'âge foetal)
 - réanimation, souffrance foetale (liquide teinté)
 - recherche d'une hyperthermie : pendant 24 h. après l'accouchement
 et pendant 3 jours si le placenta est positif

- si hyperthermie entre J.1 et J.3 : frottis-goutte épaisse de contrôle
et si la parasitémie positive : examens à J.10 J.30 et J.5 mois
(avec sérologie si possible)

ENQUETE HEMATO-IMMUNOLOGIQUE

- PARTURIENTE :
- numération
 - hématocrite
 - typage de l'hémoglobine
 - dosage de l'hémoglobine
 - sérologie palustre (en IFI)

- NOUVEAU NE :
- numération
 - hématocrite
 - VGM
 - typage de l'hémoglobine
 - dosage de l'hémoglobine
 - sérologie palustre (en IFI)
 - recherche d'antigènes solubles circulants.

ENQUETE ANATOMO-PATHOLOGIQUE

- PARASITES :
- « typage biochimique » du parasite placentaire
 - 1./ préparation de culots de parasites extraits d'hématies placentaires :
Le sang des espaces intervillitaire est récolté, après hémolyse et plusieurs lavage-centrifugation avec du serum physiologique, les culots de parasites sont cryopréservés en azote liquide.
 - 2./ typage biochimique de l'hématozoaire *Plasmodium falciparum* :
Dans un second temps on va effectuer des zymogrammes sur les culots cryopréservés (après lyophilisation).

- PLACENTA :
- prélèvements en salle d'accouchement :
en liquide de Bouin
en formol salé
 - coupes histologiques d'anatomo-pathologie :
examen microscopique après coloration au Giemsa

Fiche 1.
(Fiche recto)

DATE: / / 198

N°

ENQUETE SANG DE CORDON / PALU MERE-ENFANT

M È R È

- Interrogatoire:

- Age:
- Antécédents:
- Nbre de geste(s) Nbre d'avortement(s):
- Nbre d'Enfant(s) vivant(s) Nbre d'Enfant(s) mort(s):

- Prélèvements:

- Frottis / G.E. { Espèce plasmodiale:
 { Densité parasitaire:

N° M

- Hb:
- Ht
- Sêrum (IFI palu):

P L A C E N T A

- Remarques: (aspect et lésions):

- Prélèvements: - application sur lame { Espèces plasmodiales:
 { (tropho:
 { Densité parasitaire (schiz.:
 { (roaces:

- Densité macrophages / pigment palustre:

N° P

- Histologie (si placenta positif):

R E M A R Q U E S

- Description des enquêtes

ENQUETE LONGITUDINALE

Cette enquête menée à Bobo-Dioulasso sur le parasitisme placentaire et la densité parasitaire dans les espaces intervillositaires a duré 30 mois et elle a été essentiellement conduite dans les deux seules maternité de cette ville (Hôpital Général et Maternité Municipale). Cependant en zone de savane arborée comme du sud du Burkina-Faso, il existe des variations saisonnières dans la dynamique de transmission palustre (cf. **1.ère Partie**), une étude sur les parasitémies placentaires ne peut être effectuée qu'en tenant compte de ces fluctuations. En zone de transmission palustre permanente, comme au Gabon et au Congo, on sait que l'infestation placentaire, bien qu'elle ait des répercussions sur le fœtus, n'est pas un problème majeur de PMI.

ENQUETES SAISONNIERES

Différentes enquêtes ont donc été ciblées pour étudier "l'inter-saison" (fin de saison des pluies/début saison sèche), au moment où la transmission palustre est maximum et elles ont porté sur 215 placentas :

- *1ère enquête* : en début de saison sèche : en Janvier-Février
- *2ème enquête* : en saison des pluies : en Septembre
- *3ème enquête* : en fin de saison des pluies : en Novembre-Décembre
- *4ème enquête* : en saison sèche : en Avril
- *5ème enquête* : en fin de saison des pluies : en Novembre-Décembre

Dans ces enquêtes nous avons ciblé deux fois l'inter-saison de Novembre-Décembre qui est la période de l'année où la transmission palustre est la plus intense (cf. **1.ère Partie**).

ENQUETES PARTICULIERES

Deux enquêtes particulières ont été conduites,

- l'une a concerné l'étude d'un effectif de 100 femmes pour étudier l'âge des parturientes en relation avec les infections palustres placentaires, on a distingué cinq classes d'âge : 15 / 20 ans, 20 / 25 ans, 25 / 30 ans, 30 / 35 ans et 35 / >40 ans.

- l'autre pour étudier la transmission palustre intra-urbaine pendant les mois de juillet à décembre des années 1983 et 1984. Cette enquête a porté sur 342 placentas, elle a tenu compte de la domiciliation des parturiente, après sélection (par interrogatoire) des femmes qui n'ont pas changé de domicile ni voyagé hors de la ville pendant une période de 10 mois avant la date de l'accouchement.

III./ INFECTION PLACENTAIRE ET RISQUES

III.a – REALITE ET INTENSITE DES PARASTITEMIES

- Fréquence des parasitémies placentaires

Sur 1.394 placentas examinés (observés microscopiquement) sur 30 mois d'enquêtes (1983-1984) dans les deux maternités, nous avons trouvé en moyenne annuelle environ 10 % de placentas parasités (Molez et al., 1983) et ils ont été trouvés infectés uniquement par l'espèce plasmodiale *Plasmodium falciparum*.

Sur ces 1.394 placentas, on ignore l'histoire gestationnelle (degré de parité) de 113 femmes, nous avons donc étudié plus en détail les 1281 placentas pour lesquels la fiche de renseignement était complète (Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995).

Infections palustres placentaires à Bobo-Dioulasso

Placentas examinés : nombre	Placentas avec parasitémie 147	Placentas non parasités 1134	TOTAL 1281
%	12,9 % d'infection placentaire		placentas

Enquête longitudinale 1983-1984 sur 30 mois (données cumulées), sur 1281 placentas.

Par ailleurs, on a constaté qu'il existait une fluctuation saisonnière dans ces infections placentaires, alors que dans une précédente étude à Brazzaville (Carnevale et al., 1983), en zone de transmission palustre intense, on n'avait pas remarqué de fluctuations saisonnières dans ces parasitémies (on avait observé 10 à 17 % d'infection placentaire). Cette absence de fluctuation saisonnière a également été observée au Gabon où la transmission palustre est également intense et permanente (Walter, 1987).

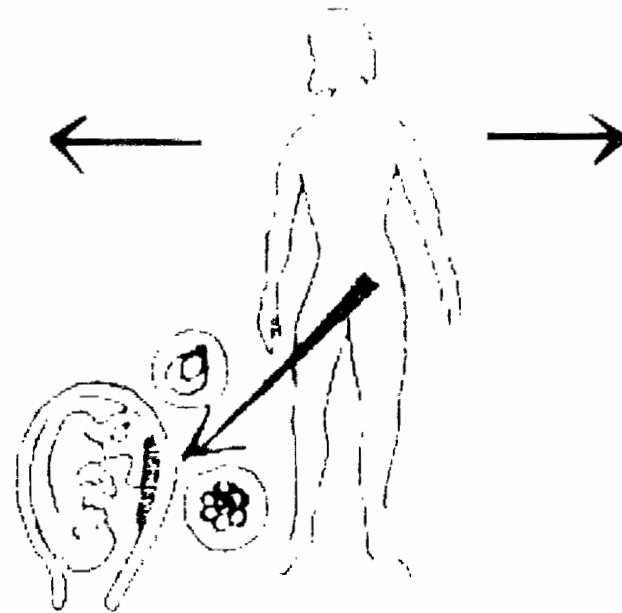
Nous avons constaté au cours de cette étude que dans 50% des cas de parasitémie positive chez une parturiente le placenta n'est pas infecté soit colonisé par l'hématozoaire et inversement, un placenta fortement parasité peut exister sans qu'il existe de parasitémie décelable à l'examen du sang périphérique (Molez et al., 1983). Dans une précédente étude à Brazzaville (Carnevale et al., 1983), on avait déjà remarqué que les infections palustres placentaires s'observaient souvent en l'absence de toute parasitémie circulante.

**Résultats de 30 mois d 'enquête dans les deux maternités
concernant 1.394 placentas examinés**
(données cumulées)

Infection palustre placentaire

**6 à 16% d 'infection
palustre placentaire**
(10% de moyenne
annuelle)

**la fréquence de ces
parasitémies
présente des
fluctuations
saisonnnières**



**dans 50% des cas de
parasitémie
placentaire il n 'existe
pas de parasitémie
sanguine circulante
chez la mère**

seul *Plasmodium falciparum* est retrouvé dans les parasitémies

- Fluctuations saisonnière des infections

Sur les 1281 placentas pour lesquels la fiche de renseignement était complète, nous avons étudié plus en détail les fluctuations saisonnières des infections palustre placentaires (Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995) :

Saisons et fluctuations de l'infection placentaire palustre

Saison des pluies : de mai à octobre
> transmission palustre intense

Saison sèche : de novembre à avril
> transmission palustre basse

Période	Fevr./Mai	Juin/Sept.	Oct./Nov.	TOTAL
placentas examinés : nombre	311	643	327	1281
parasitémie positive/négative %	13(+) / 298(-) 4,36 %	73(+) / 570(-) 12,8 %	61(+) / 266(-) 22,9 %	147(+) / 1134(-) 12,9 %

Enquête longitudinale 1983-1984 sur 30 mois (données cumulées)
1281 placentas examinés

Le maximum des infections placentaires est observé en Octobre-Novembre se rapporte à un maximum de transmission palustre situé en Août-Septembre. La remontée des parasitémies placentaires commence en Juin avec la reprise des pluies et de la transmission (cf. **1.ere Partie**) et il correspond aussi à un minima annuel dans l'immunité antipalustre chez la mère. Le minima des infections placentaires en saison sèche, correspond à la période de basse transmission et au maxima d'immunité antipalustre chez les femmes qui sortent de la période de forte transmission palustre avec relance de la stimulation antigénique par les piqûres infectantes (cf. **1.ere Partie**). Le mois avec le plus fort pourcentage de placentas parasités (24,5 %) se trouve en fin de saison des pluies et le plus faible pourcentage mensuel se trouve en saison sèche (1 %).

De la même façon, on observe des fluctuations saisonnières pour les densités parasitaires (en pourcentage d'érythrocytes parasités) dans les espaces intervillositaires du placenta. La parasitémie érythrocytaire moyenne est de 0,75 % pendant la période de Janvier-Février, alors que pour la période Novembre à Mars parasitémie érythrocytaire moyenne est de 6,5 % d'infection par l'espèce *P. falciparum*. Les très fortes parasitémies érythrocytaires avec 50 à 70 % d'hématies infectées se rencontrent en novembre et décembre.

III.b - AGE, PARITE ET DENSITE

- Age et infection placentaire

L'étude parasitologique un effectif de 100 parturientes pour déterminer la fréquence des infections du placentaires à *P. falciparum* selon l'âge des parturientes a été réalisée en Septembre. Cinq classes d'âge avait été choisies : 15 / 20 ans, 20 / 25 ans, 25 / 30 ans, 30 / 35 ans et 35 / >40 ans.

Tableau de répartition des infections placentaires selon l'âge des mères

	Effectif	Fréquence absolue des meres GE(+)	Fréquence absolue des placentas(+)	Fréquence relative (%) des mères GE(+)
15-20 ans	31	21	5	31,80%
20-25 ans	21	14	3	21,20%
25-30 ans	16	13	1	19,70%
30-35 ans	14	9	2	13,60%
35->40 ans	2	1	0	1,50%
(non classées)	(16)	(8)	(0)	(12,10%)
TOTAL	100	60	11	100%

Sur les 100 parturientes, 14 femmes n'ont pu donner un âge exact, 70 femmes ont fourni un âge approximatif, les autres femmes ne connaissant pas leur âge ont été classées après estimation, seules 16 femmes seront non classées (âge estimé étant peu sûr).

Concernant la répartition des infections placentaires, on peut donc affirmer que l'âge semble jouer un rôle sur l'indice d'infection placentaire (Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995), mais chez l'adulte jeune présente également des infections palustres circulantes plus fréquentes que le sujet plus âgé chez qui l'immunité antipalustre est mieux établie (Baudon et al., 1984 ; Robert et al., 198 ; Gazin et al., 1988).

- Parité et infection placentaire

Au cours de l'enquête longitudinale sur les 30 mois d'examen de placentas, de la même façon qu'il existe une fréquence élevée des placentas infectés chez les jeunes mères âgées de 15 à 25 ans, on a constaté que la fréquence absolue des infections du placentaires à

Plasmodium falciparum est beaucoup plus élevée chez les très jeunes parturientes (en nombre de gestes).

Saisons, parité et infection palustre placentaire

PARTURIANTES	Fevr./Mai	Juin/Sept.	Oct./Nov.	TOTAL
1.ère geste	5,63 % 4(+) / 71(-)	30,68 % 27(+) / 88(-)	32,20 % 19(+) / 59(-)	24,31% de positifs
2.ème geste	8 % 4(+) / 50(-)	13,17 % 17(+) / 129 (-)	29,41 % 15(+) / 51(-)	15,65 % de positifs
(1.ère + 2.ème geste)	(6,20 %)	(16,80 %)	(23,60 %)	
> de 2 gestes	2,82 % 5(+) / 177 (-)	8,21 % 29(+) / 353(-)	17,30 % 27(+)/156(-)	8,89 % de positifs
Nb placentas examinés :	311	643	327	1281

Données cumulées extraites du tableau page 42.bis
(enquête longitudinale 1983-1984, sur 30 mois, 1281 placentas examinés)

On constate également que c'est chez les jeunes gestantes (primigeste ou seconde geste) que l'on retrouve le plus souvent un placenta parasité, les « grandes » (et/ou âgées) multigestes semblent moins sensibles à l'infection palustre par *P. falciparum*.

L'analyse des données cumulées de l'enquête longitudinale de 30 mois (sur un effectif de 1.281 placentas observés microscopiquement) nous montre (voir Tableau ci-dessus) :

- dans la classe des **1 ère gestes** on retrouve **24,31 %** d'infection placentaire.
- dans la classe des **2 ème gestes** on retrouve **15,65 %** d'infection placentaire.
- dans la classe des **multigestes** on retrouve **8,89 %** d'infection placentaire.

Nous avons donc un âge moyen plus bas chez les femmes qui ont un placenta parasité (1 ère ou 2 ème parité), que chez les femmes qui ont un placenta sain. Ainsi l'infection palustre placentaire présente une incidence décroissante à mesure que la parité augmente (Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995),

Le fait que la proportion de primipares représente la majeure partie des placentas infectés, avait déjà été signalé en Afrique de l'Ouest (Archibald, 1956 ; Cannon, 1958 ; Anthonioz et al., 1979 ; Bohoussou et al., 1989). Cette observation se retrouve aussi en région tropicale (Spitz, 1959 ; Walter, 1987 ; Testa et al., 1989).

PARITE ET INFECTION PLACENTAIRE AVEC *P. falciparum*

Données cumulées sur 30 mois (1983-1984) 1.281 placentas examinés dans les maternités de Bobo Dioulasso

(apposition placentaire réalisée au moment de la délivrance)

MOIS :	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier
1.ère geste (% de +)	0(+) / 20(-) -	0(+) / 19(-) -	1(+) / 18(-) 5,30%	3(+) / 14(-) 17,60%	11(+) / 23(-) 32,30%	8(+) / 19(-) 29,60%	6(+) / 27(-) 18,20%	2(+) / 19(-) 9,50%	2(+) / 24(-) 7,70%	11(+) / 30(-) 26,80%	6(+) / 15(-) 28,60%	5(+) / 17(-) 22,70%
2.ème geste (% de +)	1(+) / 13(-) 15,00%	1(+) / 15(-) 6,25%	1(+) / 12(-) 7,70%	1(+) / 10(-) 9,00%	7(+) / 27(-) 20,60%	4(+) / 35(-) 10,20%	5(+) / 43(-) 10,40%	1(+) / 24(-) 4,00%	3(+) / 15(-) 16,70%	9(+) / 21(-) 30,00%	3(+) / 15(-) 16,70%	0(+) / 15(-) -
> de 2 gestes (% de +)	3(+) / 44(-) 6,40%	0(+) / 63(-) -	2(+) / 43(-) 4,40%	0(+) / 40(-) -	9(+) / 91(-) 9,00%	9(+) / 94(-) 8,70%	7(+) / 117(-) 5,30%	4(+) / 56(-) 6,70%	4(+) / 47(-) 7,80%	17(+) / 63(-) 18,90%	6(+) / 46(-) 11,50%	1(+) / 47(-) 2,90%
TOTAL (% de +)	4(+) / 77(-) 4,90%	1(+) / 94(-) 1,00%	4(+) / 73(-) 5,20%	4(+) / 64(-) 5,90%	27(+) / 141(-) 16,10%	21(+) / 148(-) 12,40%	18(+) / 187(-) 8,80%	7(+) / 99(-) 6,60%	9(+) / 86(-) 9,50%	37(+) / 114(-) 24,50%	15(+) / 76(-) 16,50%	6(+) / 79(-) 7,00%

(+) = placenta avec parasitémie placentaire à *P. falciparum*

(-) = placenta sans parasitémie placentaire à l'examen microscopique

- Aspect des infections placentaires

L'examen microscopique des placentas (application sur lame colorée au Giemsa, Photos 1. et 2) nous montre que ce sont chez les parturientes jeunes (15-25 ans) que l'on va trouver les plus fortes densités parasitaires dans les lacs sanguins des espaces intervillositaires (Figure 3.) (Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995). On observe chez ces jeunes gestantes une réaction macrophagique importante (Photos 3. et 4.) pour combattre la placentaire et cette réaction histologique semble être intimement liée à l'état immunitaire de la parturiente (Boukari et al., 1991 ; Bulmer et al., 1993a).

Les primipares présentent un plus fort taux de parasitémie érythrocytaire quel que soit leur âge. Par ailleurs, les jeunes pares (primi et seconde geste) une réaction macrophagique tardive mais forte que les autres parturientes plus « vieilles » (en âge et en gestation) chez qui cette réaction cellulaire de défense est beaucoup plus précoce et moins forte (Walter et al., 1981 ; Walter, 1987 ; Yamada et al., 1989 ; Bulmer et al., 1993a).

D'autre part le risque de lésions placentaires est maximal chez les primipares, la réaction macrophagique va provoquer des inflammations trophoblastiques et villositaires importantes (avec pour finir des dépôts d'hémozoïne dans le trophoblaste et les villosités du chorion), ce risque semble diminuer donc avec l'âge et la parité (Boukari et al., 1991 ; Bulmer et al., 1993b).

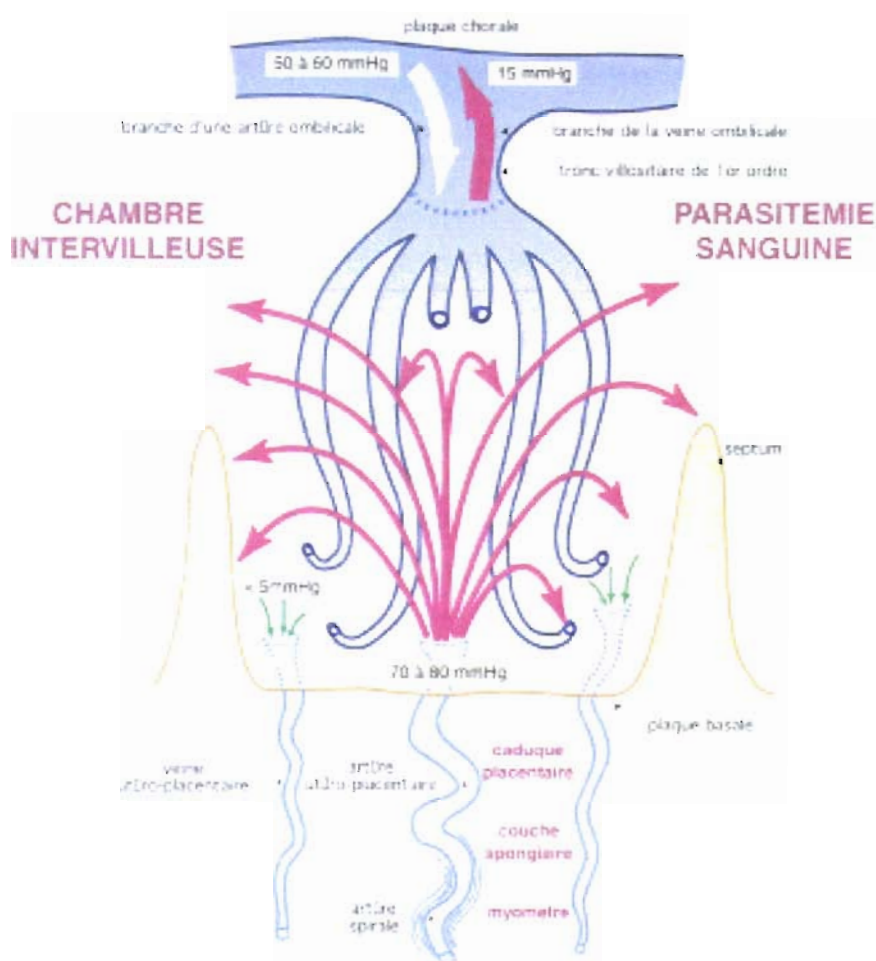
Les parturientes multipares ont des parasitémies placentaires à *P. falciparum* moins importantes et la réaction macrophagique est plus tardive et moins violente. Chez ces « grandes » multigestes, pour une même infection placentaire (en densité parasitaire). Ces multipares possèdent un seuil de tolérance parasitaire plus élevé (seuil de parasitémie sanguine circulante) et elles semblent mieux « maîtriser » cette prolifération parasitaire profonde qu'est l'infection palustre placentaire (on verra par la suite que chez ces parturientes, on observe des taux d'Ig.G moins élevés que les jeunes primipares).

L'infection palustre placentaire concerne particulièrement les jeunes parturientes (Molez et al., 1992 ; Gazin et al., 1994 ; Molez et al., 1995), aggravant les facteurs de risque que sont la prématurité et le déficit pondéral (facteurs obstétricaux déjà liés à toute parturiente primipare et d'âge jeune). Par ailleurs on sait que la mortinatalité (âge gestationnel dépassant 180 jours) est plus fréquente avec ces primipares, au Togo, en zone côtière d'endémie palustre, Akpadza et al. (1993), rapportent que le paludisme est responsable de 15,50 % des cas de mortinatalité.

Figure 3.

LA CIRCULATION PLACENTAIRE

d'après les données de WILKIN, REYNOLDS, FREESE, RAMSEY (*)

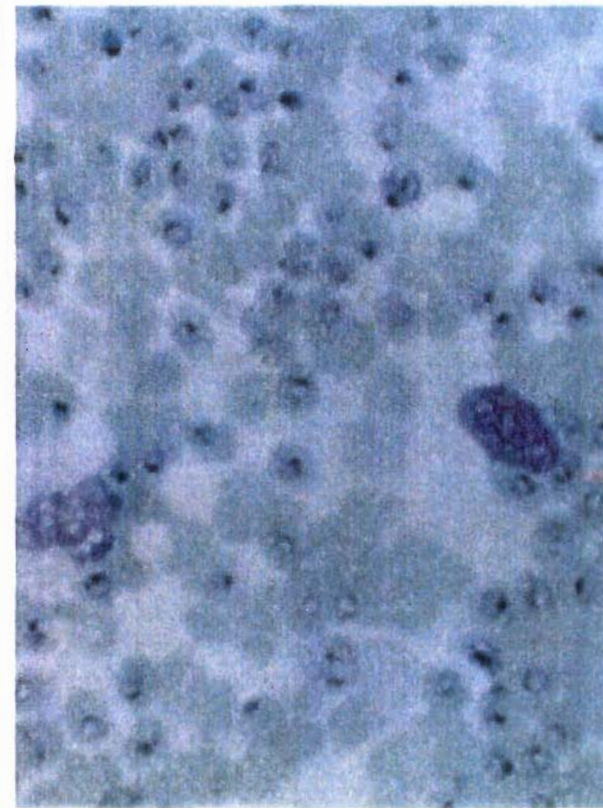
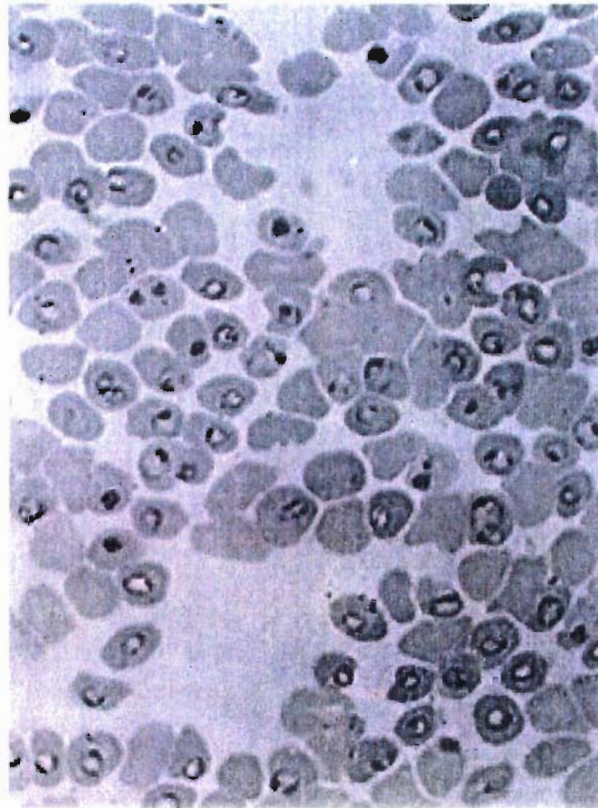


(*) in : Alsat (E.) et Evain-Brion (D.) – Le placenta humain : neuf mois d'une intense activité encore méconnue.
M. T. Pédiatrie, 1998 ; 1 (6) : 509-516.

La parasitémie placentaire palustre est retrouvée au niveau des hématies du sang maternel dans les espaces intervillositaires. Les érythrocytes parasités par des parasites âgés ne sont plus déformables, ils ne peuvent plus repasser dans la circulation périphérique et ils restent séquestrés dans la chambre intervillieuse.

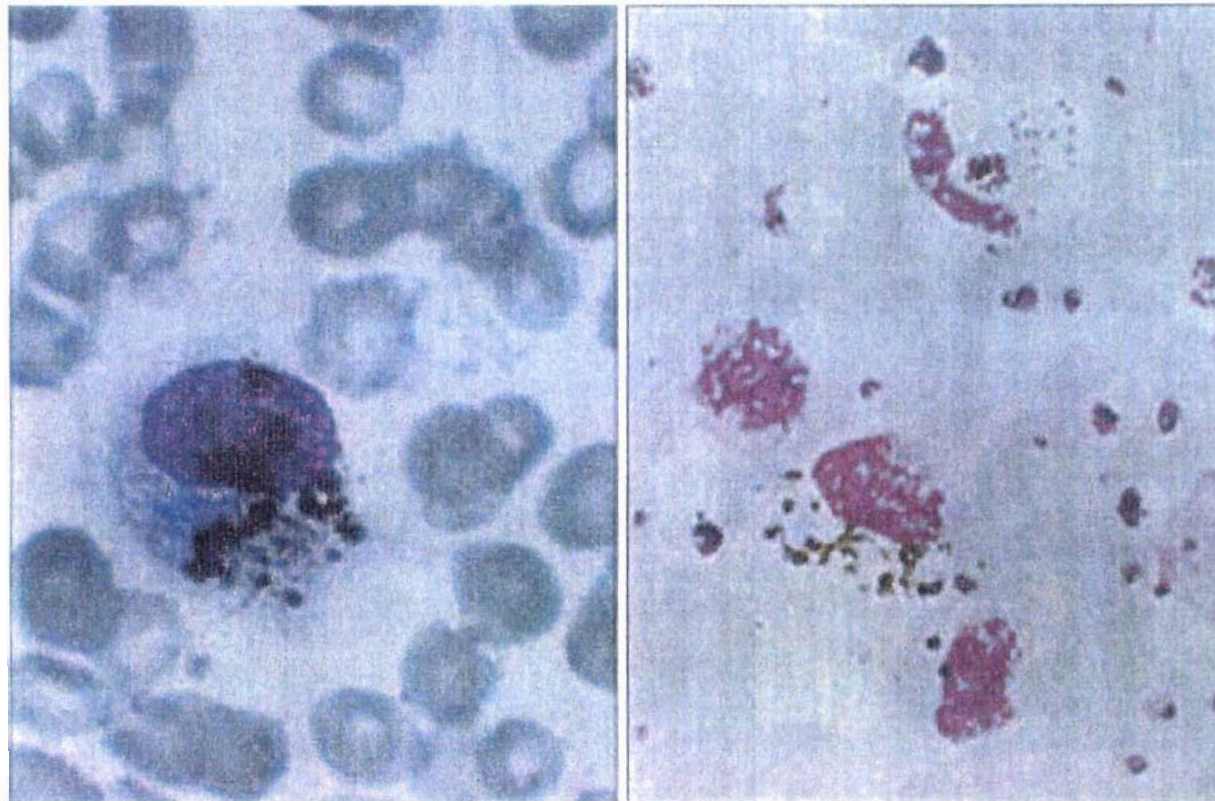
Photos 1 & 2 : APPLICATION PLACENTAIRE
(empreinte de placenta colorée au Giemsa)

PHOTO DE GAUCHE : parasitémie sanguine placentaire
jusqu'à 70% d'hématices parasitées et le pluriparasitisme est fréquent
PHOTO DE DROITE : parasitémie sanguine : les monocytes sont nombreux



Photos 3 & 4 : APPLICATION PLACENTAIRE
(empreinte de placenta colorée au Giemsa)

PHOTO DE GAUCHE : macrophage chargé d'hémozôine
PHOTO DE DROITE : macrophages avec du pigment paslustre
et macrophage ayant phagocyté deux rosaces (en haut à droite)



PARASITEMIE PLACENTAIRE A *Plasmodium falciparum* DANS LE SANG DES ESPACES INTERVILLOSITAIRES

III.c - ENQUETE EN ZONE URBAINE

- La transmission palustre urbaine

REALITE DE LA TRANSMISSION URBAINE

Bobo-Dioulasso comptait 230.000 habitants au moments de nos enquêtes (recensement national de décembre 1985), cette ville est relativement ancienne, certains quartiers centraux datent du siècle dernier, avec des maisons en banco imbriquées les unes dans les autres et des ruelles très étroites. Le centre ville et les quartiers avoisinants ont un schéma d'urbanisation en quadrillage et des grands axes de circulation bien dégagés, par contre les zones sub-urbaines périphériques d'extension récente ne montrent pas de plan d'urbanisation très précis. Cette ville est établie sur un petit cours d'eau, le Houet (ou Wé), dont le trajet intra urbain coupe exactement en deux l'agglomération de Bobo-Dioulasso. Ce petit cours d'eau prend naissance dans la périphérie sud à partir de différentes résurgences, son lit très encaissé au centre ville va s'élargir en aval à la sortie de l'agglomération urbaine (Figure 2.), il présente toujours un débit minimum toute l'année, et en dehors du Houet les quartiers du centre ville sont secs.

La transmission du paludisme urbain est un fait connu depuis longtemps à Bobo-Dioulasso (Coz et al., 1962) et après plus de 25 ans de développement urbain, elle reste présente et elle est suffisante pour entretenir un certain niveau d'endémie palustre dans le centre ville (Gazin et al., 1987; Benasseni et al., 1987). Nous avons même retrouvé deux infections palustres placentaires itératives chez une même femme au cours de deux grossesses successives à 15 mois d'intervalle (Molez et al., 1989), confirmant ainsi la réalité d'une permanence dans la transmission palustre urbaine à Bobo-Dioulasso.

ENQUETE SUR LES INFECTIONS PLACENTAIRES

Au cours de ces enquêtes sur le paludisme chez les parturientes, nous avons analysé le recrutement par quartier des femmes venant accoucher dans les deux maternités suivies pour nos enquêtes (Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995), c'est à dire les deux seules disponibles dans la zone urbaine de Bobo-Dioulasso (maternité de l'Hôpital Général Sanou Soro et la Maternité Municipale Ouattara Guimbi). Ces observations ont été effectuées durant les mois de juillet à décembre de 1983 et de 1984. Les résultats ont été exploitables, car le questionnaire d'interrogatoire permettait de sélectionner les femmes qui n'ont pas changé de domicile ni voyagé hors de la ville pendant une période de 10 mois

avant la date de l'accouchement et les accouchées d'origine rurale (qui ne représentent que 19 % seulement des parturientes dans les maternités de Bobo-Dioulasso).

L'examen microscopique de 342 placentas a permis de retrouver 13,5 % d'infection placentaire et la distribution par quartiers de ces infections est rapportée dans le Tableau 2.

Tableau 2.

Examen de 342 placentas pour la ville de Bobo-Dioulasso
(durant les mois de juillet à décembre des années 1983 et 1984)

PLACENTAS \		PERIODE (mois)		JUILL	AOUT	SEPT	OCT	NOV	DEC.	TOTAUX			
Ville \ N° quartiers	Parasitémie	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS		
		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+		
1	Kibidoué	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	Dioulassoba	4	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
3	Farakan	13	-	5	2	1	-	4	1	1	24		
4	Médina Coura	8	1	10	-	-	-	2	-	5	25		
5	Donona	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1		
6	Bindougouso	1	1	3	1	-	-	1	-	1	6		
7	Tounouma	-	-	-	-	1	-	1	-	1	2		
8	Kombougou	1	-	-	-	-	-	1	-	-	3		
9	Yorokoko	1	1	2	-	-	-	-	-	1	4		
10	Koko	10	-	6	1	3	-	6	2	1	28		
11	StEtienne de Tounouna	-	-	-	-	-	-	5	-	3	9		
12	Sikasso Cira	4	-	1	1	-	-	3	1	-	8		
13	Hamdalaye	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1		
14	Diaradougou	16	-	9	-	2	-	1	-	2	31		
15	Niénéta	9	-	4	-	2	-	-	3	1	18		
16	Ouezzin Ville	2	-	9	1	4	-	2	-	12	30		
17	Sarfalao	-	2	4	-	1	-	3	-	7	16		
18	Kounima	2	2	1	-	1	-	1	-	1	5		
19	Accartville Cité RAN	3	1	6	-	4	-	4	-	-	21		
20	Sossoribougou Kolsana	3	2	1	1	-	-	2	-	2	8		
21	Kolman	8	4	10	1	1	-	3	1	3	25		
22	Dogona	1	-	-	-	-	-	1	-	1	3		
23	Koua (Kwa)	-	-	2	-	-	-	1	1	1	4		
24	Bolomakoté Cité Gdms	3	-	4	-	1	-	1	-	2	11		
25	"Nouveau Camp"	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1		
26	Camp Militaire	4	-	1	-	-	-	-	-	-	5		
27	Lafiabougou	-	-	2	1	-	-	1	-	-	3		
28	Sakaby	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1		
SOUS - TOTAUX		93	14	80	9	22	-	43	6	49	15	295	47
TOTAUX		107		89		22		49		64		11	342

Une étude de la distribution des infections placentaires a été effectuée (Molez et al., 1992) pour essayer de localiser les quartiers avec forte parasitémie afin de localiser cette transmission palustre intra-urbaine.

En Afrique noire, toutes les études sur la transmission palustre en milieu urbain en zone d'endémie ont montré qu'il existait un phénomène de "distribution en cocarde" dans les niveaux de transmission (Trape et al., 1987), nulle dans le centre ville, dans les zones périphériques, elle est presque au même niveau que dans les campagnes rurales. En étudiant la distribution concentrique des infections par quartier, on ne trouve pas de résultat significatif de niveaux de transmission « en cocarde » dans les résultats (Tableau 3.)

Tableau 3.

Infection \ placentaire	Bobo - Dioulasso	zone urbaine centrale (Centre Ville)	zone périphérique (péri et sub-urbaine)	TOTAUX
placentas négatifs / positifs		137(-) 20 (+)	157(-) 28 (+)	295(-) 48(+)
% de positifs		12,7 %	15 %	
TOTAUX		157	185	342

Chi 2 = 0,404 ddl : 1 p > 0,50 différences non significatives

En sachant que pour assurer cette transmission palustre intra-urbaine les les gîtes anophéliens, se trouvent tout le long de l'axe nord-sud du cours d'eau, on a donc regroupé les différents quartiers en cinq bandes verticales nord-sud, en fonction de leur éloignement de cette rivière, avec une bande centrale axée sur le Houët, deux bandes latérales (urbaines) de part et d'autre et deux autres bandes latérales plus externes (péri-urbaines). La prévalence des placentas parasités (Tableau 4.) est significativement plus élevée dans la bande centrale (18,5%) que dans les deux bandes urbaines qui lui sont latérales (9%) (p < 0,02). Dans les deux bandes périphériques la prévalence atteint 28,5% (différence significative avec l'ensemble des quartiers urbains (les trois bandes centrales) (test de Fisher, p = 0,05).

Tableau 4.

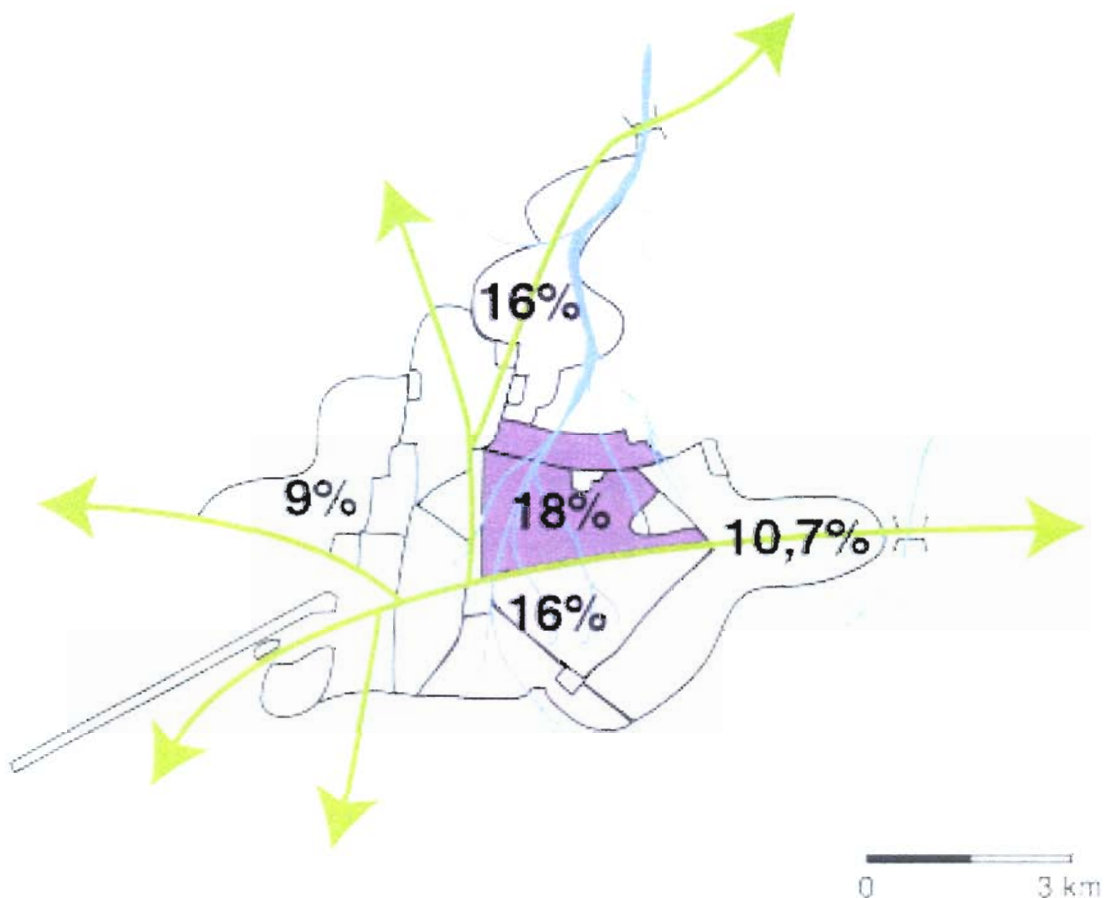
Infection \ placentaire (P. falciparum)	Découpage en bandes verticales	1 bande centrale (axe du Houët)	2 bandes urbaines Est et Ouest (cumul)	2 bandes péri-urbaines Est et Ouest (cumul)	TOTAUX
placentas négatifs		100	179	15	294
placentas positifs		23	18	6	48
% de positifs		18,5 %	9 %	28,5 %	
TOTAUX		123	197	21	342

entre la bande urbaine centrale et les deux bandes urbaines Est + Ouest (cumul)
le Chi 2 = 6,197 ddl : 2 p < 0,02 les différences sont significatives

En détaillant les infections placentaire à *P. falciparum* dans cette bande centrale axée sur le cours d'eau intra-urbain, on a une vision tout a fait claire de la transmission palustre (Molez et al., 1992), ainsi les plus forts pourcentages d'infection palustre placentaire (Figure 2.). Le long de l'axe du Houët qui traverse Bobo-Dioulasso, la prévalence est plus forte (16 %, 18 % et 16 %) que dans les deux zones urbaines Ouest (9 %) et Est (10,7 %). Ces quartiers urbains latéraux surplombent le centre ville et ils sont plus éloignées des gîtes anophéliens situés le long du cours d'eau intra-urbain.

Figure 2.

Infection palustre placentaire à *P. falciparum* et zones urbaines de Bobo-Dioulasso



RESULTATS ENTOMO-PARASITOLOGIQUES

Nous avons rapproché ce travail d'enquête sur les parasitémies placentaires avec des enquêtes entomologiques menées dans la ville pour étudier la dynamique et le niveau de la transmission anophélienne dans la zone urbaine. Dans certains quartiers de la ville, l'agressivité anophélienne (*ma* : nombre de piqûres d'anophèles par homme par nuit) observée varie de 0 à 0,75 dans le quartier de Dioulassoba et de 0 à 0,50 dans le quartier de

Kolman et le maximum de densité anophélienne (*ma*) urbaine s'observe en septembre avec 96 % du total annuel des *Anopheles gambiae* urbains capturés (Robert *et al.*, 1986).

Concernant la transmission par le vecteur (cf. **1.ère Partie** : h. = nombre de piqûres infectantes d'anophèles par homme par nuit), il a été observé, en capture nocturne sur homme (avec comptage horaire des anophèles), qu'« un individu dormant dans le quartier central (Dioulassoba) reçoit 93 piqûres d'anophèles par an ». Cette transmission peut sembler très faible, cependant elle est suffisante pour assurer une circulation de l'hématozoaire *P. falciparum* dans la population humaine dans les quartiers qui bordent ces gîtes anophéliens intra-urbains le long de la rivière.

TRANSMISSION PALUSTRE SAISONNIERE

Cette enquête s'étant déroulée à chaque fois pendant les mois de juillet à décembre, on observe qu'il existe des variations mensuelles dans les infections placentaires durant cette période de l'année (Tableau 5.). On retrouve la fréquence plus élevée des parasitémies placentaires pendant la période des pluies (de forte transmission palustre) constatée dans l'étude longitudinale (cf. supra : IIIa.). Les infections placentaires de novembre-décembre peuvent correspondre au pic de transmission intra-urbain de septembre et les infections de juillet peuvent correspondre à la reprise de la transmission trois mois plus tôt avec l'augmentation de la production des gîtes en mai (avec l'arrivée des pluies) (cf. **1.ère Partie**). Nos enquêtes longitudinales (cf. supra : IIIa., effectif de 1281 placentas sur 30 mois) confirment ce décalage de trois mois entre les maxima de la transmission palustre et les maxima dans les infections placentaires.

Tableau 5.

	JUILL. / AOUT	SEPT. / OCT.	NOV. / DEC.	TOTAUX
Placentas négatifs	173	65	57	295
Placentas parasités	23	6	18	47
Total des placentas examinés	196	71	75	342

Chi 2 = ddl : 2 p < 0,02 différences significatives

Ces observations sur la fluctuation saisonnière de ces infections palustres placentaires à *P. falciparum* correspondent aux données entomologiques sur la transmission palustre urbaine concernant la dynamique des gîtes anophéliens. En saison sèche, le cours d'eau intra-urbain s'arrête très souvent de couler car son débit est saisonnier et il est maximum pendant la deuxième moitié de la saison des pluies, l'intensité de la production des gîtes anophéliens présente donc des fluctuations saisonnières. Cependant, pendant la saison sèche vont subsister de nombreuses mares d'eau stagnante utilisées par les maraîchers établis sur les rives (alimentées par des résurgences) qui sont des gîtes anophéliens de saison sèche.

- L'apposition placentaire comme «outil» d'enquête

En zone d'endémie palustre d'Afrique noire, les études sur le paludisme présentent un intérêt sans cesse renouvelé du fait de l'urbanisation galopante et de l'importance croissante des populations urbaines non-immunes. En utilisant ce protocole d'application sur lame d'une coupe du placenta (empreinte du tissu), il a été possible de caractériser une zone de plus forte transmission dans le centre ville de Bobo-Dioulasso, que les études entomologiques n'avaient pas permis de bien saisir. Effectuée par du personnel assez peu spécialisé (pour des examens parasitologiques), ce type d'enquête en salle d'accouchement permet d'atteindre toutes les catégories socio-économiques.

Cette méthode d'approche du niveau de transmission et d'endémie palustre menée dans les maternités, permet d'aborder d'une façon différente et la réalité de l'infection palustre et du niveau de transmission, dans des zones où les études entomologiques sont difficiles à réaliser (zones urbaines). C'est un indicateur fiable et original sur la réalité d'une transmission palustre et l'infection placentaire semble être un meilleur indicateur que le très classique indice parasitaire effectué chez les enfants dans les écoles. En effet, en milieu rural les écoles drainent une population très élargie et les indices plasmodiques scolaires ne sont pas des indicateurs du niveau de transmission palustre pour le village où se situe l'école.

Cette technique d'enquête est réalisable dans des structures de soins de santé primaires en zones rurales privées de laboratoire, les lames confectionnées peuvent être stockées (après fixation à l'alcool) pour attendre un ramassage hebdomadaire pour être centralisées dans un laboratoire régional. Ainsi, ce type d'enquête par apposition

placentaire a été utilisé en zone rurale de Centrafrique (Testa et al., 1989) pour connaître l'incidence du paludisme dans des zones éloignées de toute structure de santé

III.c - PARASITEMIE ET PLACENTA

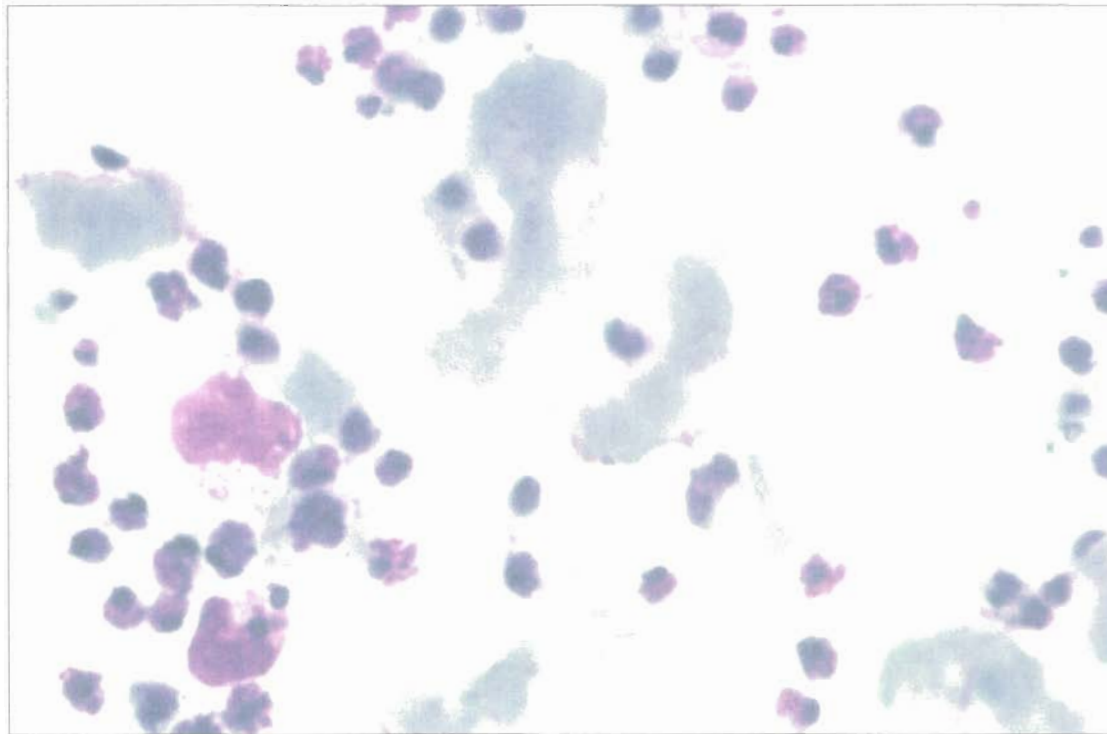
- Parasitémie sanguine placentaire

Seule l'espèce plasmodiale *P. falciparum* a été retrouvée comme étant responsable de l'infection, après 30 mois d'enquête à la recherche d'hématozoaires infectant le placenta dans les deux maternités de la ville de Bobo-Dioulasso. Nos résultats (Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995), On sait (cf supra : IIIa.) que lorsqu'un placenta est retrouvé positif au moment de la délivrance, dans 50 % des cas la mère est parasitologiquement négative à l'examen microscopique du sang circulant (GE réalisée à la pulpe du doigt). Il ne faudra jamais exclure une atteinte parasitologique placentaire chez une femme dont la recherche d'hématozoaires dans le sang périphérique est négative au moment de l'accouchement (Gazin et al., 1994). De même une parasitémie positive dans le sang circulant n'implique pas que le placenta soit atteint chez la parturiente. Il n'y a donc absolument pas de corrélation entre la densité d'hématozoaires parasites circulants dans le sang périphérique et la colonisation par le *Plasmodium* des lacs sanguins des espaces intervillositaires du placenta.

On sait que le cycle de développement de *P. falciparum* s'effectue dans les capillaires viscéraux, dans le cas du placenta, l'hématozoaire va parasiter les hématozoaires (sang maternel) contenu dans les espaces intervillositaires de cet organe profond. Tous les stades de développement de ce parasite peuvent être observés dans le sang contenu dans la chambre intervilleuse (Figure 3.) : du trophozoïte à la rosace (Photos 5 et Photo 6.). Par ailleurs, la gamétocytogonie de cet hématozoaire a lieu dans les organes profonds et il faut remarquer que sur les 1394 examens microscopiques d'appositions placentaires (en 30 mois : Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995), nous avons rencontré des gamétocytes à deux reprises (toujours en très faible densité). Nous avons déjà effectué cette observation sur un placenta dans notre enquête de Brazzaville (Carnevale et al., 1985). On constate donc que tous les stades du développement de l'hématozoaire *P. falciparum* peuvent se rencontrer dans les hématies placentaires des espaces intervillositaires, bien que ces gamétocytes soient en « impasse parasitaire » (non déformables ils ne peuvent s'échapper du placenta).

Photo 5 : APPLICATION PLACENTAIRE
(empreinte de placenta colorée au Giemsa)

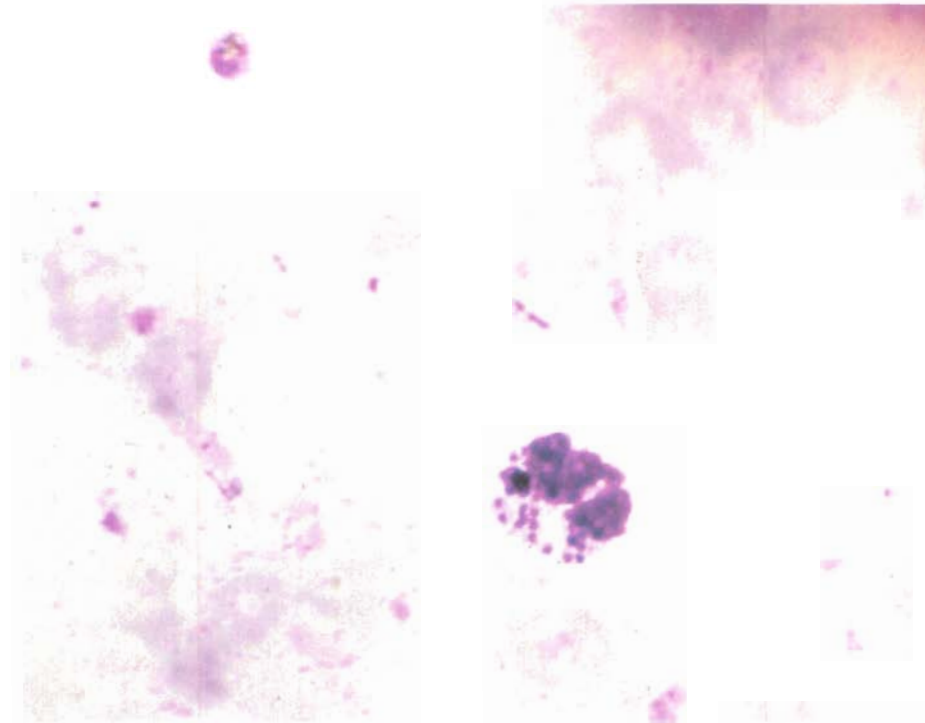
Parasitémie synchrone avec schizontes agés et rosaces, et réaction macrophagique de phagocytose.
Ces stades parasitaires agés de *P. falciparum* ne sont jamais observés dans la parasitémie sanguine circulante



PARASITEMIE PLACENTAIRE A *Plasmodium falciparum* DANS LE SANG DES ESPACES INTERVILLOSITAIRES

Photo 6 : APPLICATION PLACENTAIRE
(empreinte de placenta colorée au Giemsa)

Macrophage ayant phagocyté deux stades rosaces de *P. falciparum*. Sur les appositions placentaires il est très facile de compter les mérozoïtes, on a constaté que sur les parasitémies du début de saison des pluies (transmission palustre intense, « *turn over* » rapide des souches chez l'hôte), les rosaces étaient constituées en général de 16 mérozoïtes, alors que sur les parasitémies de fin de saison des pluies (en saison sèche dans l'écosystème de savane arborée, la transmission palustre est à « bas bruit ») les rosaces étaient constituées en général par 32 mérozoïtes.



PARASITEMIE PLACENTAIRE A *Plasmodium falciparum* DANS LE SANG DES ESPACES INTERVILLOSITAIRES

Cette observation est à rapprocher au fait que dans cet écosystème de savane arborée, en début de saison des pluies c'est *An. gambiae* qui est vecteur majeur, alors qu'en fin de saison des pluies c'est *An. funestus* qui est vecteur majeur (changement de biotope larvaire), le changement de vecteur pourrait être un élément pour une sélection possible de « souches de saison des pluies » et de « souches de saison sèche ».

- Parasitémie et séquestration intervillonnaire

Comme l'entrée et la sortie de la chambre intervillonnaire (Figure 3.) nécessite une certaine déformabilité des hématies La colonisation de la masse sanguine des espaces intervillonnaires va se faire à partir de la circulation sanguine générale après passage d'une ou de plusieurs hématies colonisées par un jeune trophozoïte de *Plasmodium*, car. Par la suite les hématies parasitées vont perdre leur pouvoir de déformation du fait de la croissance de l'hématozoaire en position intraérythrocytaire et ces hématies vont être séquestrées dans ces espaces sanguins. Tous les stades parasitaires intra-érythrocytaires d'une certaine importance (d'un certain volume), dès le stade de schizonte mature, ainsi que les rosaces vont être séquestrés de cette façon. Il va donc se réaliser une sorte de « cercle vicieux » avec multiplication très intense du *Plasmodium*, qui va aboutir à des densités parasitaires très élevées dans la chambre intervillonnaire, sans relation avec le niveau de parasitémie observable dans la circulation périphérique de la mère (cf. supra : IIIa.).

Ces très fortes parasitémies se rencontrent chez les grossesses se déroulant en fin de saison des pluies, en période de transmission maximum (Carnevale et al., 1985 ; Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995), celles-ci peuvent atteindre 70 % d'hématies infectées sur certains examens microscopiques (Photo 1. : l'apposition placentaire se présente comme un « tapis » d'érythrocytes parasités). Cette séquestration placentaire avec des très importantes densités parasitaires dans les lacs sanguins des espaces intervillonnaires, va entraîner un ralentissement très important de la circulation sanguine. Ce ralentissement de la circulation maternelle placentaire va créer des problèmes d'hémodynamique et d'oxygénation du sang fœtal, avec l'existence d'une hypoxie sévère portant atteinte au développement fœtal intra utérin (Brabin, 1991 ; Malassiné et al., 2000 ; Meuris et al., 1993 ; Morgan, 1994 ; Olivier et al., 1978 ; Reinhart et al., 1978).

III.d - L'INCIDENCE FŒTALE

- Les effets de l'hypoxie fœtale

Ainsi, c'est l'importante densité en hématies parasitées dans les espaces intervillonnaires qui sera responsable du déficit pondéral retrouvé chez le nouveau-né à la naissance et mais il n'y a semble-t-il pas d'atteinte parasitologique directe du fœtus par *P.*

falciparum comme cela avait été rapporté (Archibald, 1958 ; Mac Gregor et al., 1974 ; Mac Gregor et al., 1983 ; Mac Laren et al., 1962).

Dans nos différentes enquêtes (Carnevale et al., 1985 ; Gazin et al., 1988 ; Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1995), nous avons constaté que les répercussions de cette infection palustre placentaire à *P. falciparum* sur le retard de croissance intra-utérin et sur la viabilité du fœtus étaient différents selon l'âge de la grossesse :

- infection du 1er trimestre = **mort fœtale in utero et avortement**
- infection du 2ème trimestre = **accouchement prématuré**
- infection du 3ème trimestre = **déficit pondéral**

Cependant, nous n'avons jamais eu la possibilité d'effectuer de prélèvement (anatomopathologique et sanguin) sur des fœtus avortés ou sur des prématurés mort-nés, ceci pour des raisons sociales et ethniques (véto de la famille pour un enterrement traditionnel du fœtus avec son placenta). Par ailleurs, les avortements n'ont pas lieu en maternité (mais dans d'autres services : en médecine générale ou en chirurgie), ou bien ils ne sont pas déclarés, et un bon nombre d'entre eux (surtout dans le cas d'une complication infectieuse), se font à domicile (pendant ou après un accès palustre, avec infection palustre placentaire ou non).

Néanmoins, lors d'une enquête précise sur la recherche d'une incidence fœtale du paludisme, dans une même maternité (celle de l'Hôpital Général de Bobo-Dioulasso), pour 201 accouchements avec placenta sain, nous avons observé qu'un seul prématuré (0,5 %), alors que pour cette même période de l'année concernant 14 enfants nés de placentas parasités par l'hématozoaire *P. falciparum* nous avons observé deux prématurés (14,3 %).

- Etude du poids de naissance

Le petit poids de naissance provoqué par l'infection palustre placentaire a été bien décrit par Jeliffe (1968) et il concerne toute la zone d'endémie palustre à *P. falciparum* d'Afrique noire. Dans les enquêtes réalisées dans les maternités de Bobo Dioulasso, la catégorie des moins de 2.500 g. est la définition que nous avons prise par l'OMS pour désigner un "petit poids à la naissance", nous avons donc considéré deux catégories de poids de naissance :

« normal » = plus de 2.500 g.

et « faible » = moins de 2.500 g.

(critères de l'OMS à la 34^{ème} Assemblée Mondiale de la Santé).

POIDS DE NAISSANCE A BOBO-DIOULASSO

Le poids de naissance moyen (sexes confondus), trouvé à Bobo-Dioulasso est de 2892g (\pm 023g); il est de 2819g (\pm 334g) pour les garçons et de 2767g (\pm 206g) pour les filles. Ce poids moyen de naissance est dans les limites de ce qui est observé dans d'autres pays africains (Brabin, 1983 ; Reinhart, 1980), c'est à dire situé entre 2800g et 3100g pour les nouveau-nés d'Afrique noire inter-tropicale. La fréquence générale des petits poids de naissance (poids < 2500g), au niveau de la Maternité de Bobo-Dioulasso, est de 16% sexes confondus, elle est de 11,6% chez les garçons et de 20,6% chez les filles (sexe qui présente classiquement un poids moyen inférieur) et elle correspond à ce qui est observé dans d'autres pays d'Afrique noire (Boutaleb et al., 1982 ; Roberts et al., 1983).

POIDS DE NAISSANCE ET PARASITEMIE PLACENTAIRE

Nous avons étudié le poids de naissance sur un échantillon de 77 nouveau nés (sur 12 mois) issus de placentas parasités par l'hématozoaire à *P. falciparum*, on a trouvé un poids moyen de naissance qui est de 2835g (\pm 255g) ; il est de 2881g (\pm 309g) pour les garçons et de 2788g (\pm 212g) pour les filles. On n'observe pas de différence significative (sexes confondus ou non), avec le poids de naissance moyen normalement retrouvé à Bobo-Dioulasso (cf. supra). D'autre part il faut observer qu'au Congo (Carnevale et al., 1985) et au Gabon (Walter et al., 1981) on ne trouve pas de corrélation évidente entre la parasitémie palustre placentaire et le déficit pondéral observé chez les nouveau nés.

Cependant au Congo et au Gabon, nous sommes en zone de transmission palustre intense, mais surtout permanente, et les densités parasitaires dans les espaces intervillositaires ne présentent pas de fluctuations saisonnières (Walter et al., 1981). Par contre à Bobo-Dioulasso, dans cette région du sud du Burkina Faso, l'endémie palustre présente une variation saisonnière du taux de transmission qui est abaissé en saison sèche (cf. **1.ère Partie**), les accès palustres vont présenter des variations de fréquence saisonnières, en fonction de la saison des pluies, et il en sera de même des infections palustres placentaires et surtout des fortes charges parasitaires dans la chambre intervillieuse.

POIDS DE NAISSANCE ET TRANSMISSION SAISONNIERE

Contrairement à l'Afrique équatoriale (Congo, Gabon), à Bobo-Dioulasso l'endémie palustre présente une variation saisonnière du taux de transmission qui est abaissé en saison sèche (cf. **1.ère Partie**), les accès palustres vont présenter des variations de fréquence saisonnières, en fonction de la saison des pluies, il en sera de même des infections palustres placentaires et surtout des fortes charges parasitaires dans le sang intervillositaire (Molez et al., 1983 ; Molez et al. 1989). Ainsi on a observé une variation saisonnière des infections palustres placentaires (de 24,5% en fin de saison des pluies à 1% en fin de saison sèche) et

des densités parasitaires (jusqu'à 70% des érythrocytes en fin de saison des pluies), dans le sang maternel placentaire (cf. : supra : IIIa).

Etant donné que ce sont les fortes charges parasitaires dans les espaces intervillositaires qui ont des effets néfastes sur la croissance foetale, nous allons découper nos observations sur les petits poids de naissance en deux périodes, tenant compte de la dynamique de la transmission palustre. Cette approche nous permet de trouver une relation de cause à effet entre l'infection palustre placentaire et le déficit pondéral à la naissance (Tableau 6 et Tableau 7.). Le déficit pondéral chez l'enfant né d'un placenta parasité dont la grossesse s'est effectuée en saison de transmission palustre (juin à novembre) est :

- de : 450 g. +/- 320 g. pour le N.né sexes confondus**
de : 140 g. +/- 80 g. pour le N.né de sexe masculin
de : 565 g. +/- 135 g. pour le N.né de sexe féminin

Ainsi les déficits pondéraux chez les enfants issus de placentas parasités par *P. falciparum* s'observent chez ceux qui naissent en saison sèche, c'est à dire chez les nouveau-nés dont la maturité foetale s'est située en période de forte transmission palustre (saison pluvieuse). Par contre les enfants qui naissent en saison pluies d'un placenta parasité (la grossesse en saison sèche, période de transmission minimum), ne présentent pas de différence pondérale significative vis-à-vis du poids moyen du nouveau-né avec placenta sain.

Tableau 6.
POIDS MOYEN DE NAISSANCE, SAISON ET PARASITEMIE PLACENTAIRE

<u>Période de la grossesse :</u> Moment de la naissance : Sexe / Effectif 77 :	grossesse en saison de : <u>forte transmission</u> né en saison sèche (entre Déc. et Mai) placentas parasités effectif : 20	grossesse en saison de : <u>basse transmission</u> né en saison des pluies (entre Juin et Nov.) placentas parasités effectif : 57	Maternité Hôp. Génl. de Bobo-Dioulasso (cumul des données années 1983-84) <u>MOYENNE GENERALE</u> pour 329 naissances
N.nés sexes confondus	2 570 g. (± 426)	2 918 g. (± 193)	2 892 g. (± 023)
N.nés de sexe masculin	2 693 g. (± 533)	2 952 g. (± 221)	2 819 g. (± 334)
N.nés de sexe féminin	2 343 g. (± 202)	2 884 g. (± 168)	2 767 g. (± 206)

(enquête sur 12 mois avec un échantillon de 77 nouveau nés dans les deux maternités de Bobo-Dioulasso)

Tableau 7.**FREQUENCE DU DEFICIT PONDERAL, PARASITEMIE PLACENTAIRE ET SAISON**

(fréquence des petits poids de naissance inférieurs à 2 500 g.)

<u>Période de la grossesse :</u> Moment de la naissance : Sexe / Effectif 77 :	<u>grossesse en saison de forte transmission</u> né en saison sèche (entre Déc. et Mai) placentas parasités effectif : 20	<u>grossesse en saison de basse transmission</u> né en saison des pluies (entre Juin et Nov.) placentas parasités effectif : 57	Maternité Hôp. Gén ^l . de Bobo-Dioulasso (cumul des données années 1983-84) <u>FREQUENCE GENERALE</u> sur 329 naissances
N.nés sexes confondus	41 %	17 %	16 %
N.nés de sexe masculin	23,7 %	20,7 %	11,6 %
N.nés de sexe féminin	20,7 %	14,3 %	20,6 %

(enquête sur 12 mois avec un échantillon de 77 nouveau nés dans les deux maternités de Bobo-Dioulasso)

Il a une incidence particulière du déficit pondéral sur les nouveau-nés de sexe féminin qui ont toujours un poids moyen inférieur au sexe masculin et ils entrent ainsi plus rapidement dans la catégorie des moins de 2.500 g.

Ainsi, à Bobo-Dioulasso, il existe un rapport saisonnier de cause à effet lorsque la transmission est maximum en fin de saison des pluies. En effet, de la même façon, il y aura « un effet saisonnier » du paludisme sur l'infection placentaire et un « un effet saisonnier » de cette infection sur les petits poids des nouveau-nés à la naissance (Molez et al., 1995), en Guinée-Bissau, Lefait et al. (1999) ont également retrouvé ce déficit pondéral saisonnier.

- Etude du déficit pondéralLES CAUSES DES PETITS POIDS DE NAISSANCE

En dehors d'une infection intra-utérine (paludisme ou autre), l'insuffisance pondérale à la naissance peut être due à plusieurs facteurs (Harrison et al., 1973 ; Kramer, 1987). :

- a./ génétiques : ethnique, poids et taille maternels, etc...
- b./ obstétricaux : pathologie associée, mère âgée de moins de 20 ans, gemellarité, naissances rapprochées, naissance avant terme, etc...
- c./ environnementaux : anémie, socio-économiques, travail rural, etc...

Parité et petits poids de naissance

On sait que les premières et secondes gestes sont en obstétrique des sujets donnant plus souvent des petits poids à la naissance que les multipares plus âgées. En effet, le poids du nouveau-né augmente avec la parité, jusqu'à la 7^{ème} ou 9^{ème} parité (Harrison et al., 1973 ; Kramer, 1987). Ce facteur de primiparité vient se surajouter au fait que les jeunes pères (1^{ère} ou 2^{ème}) sont plus souvent sujettes à l'infection palustre placentaire (cf. supra : IIIb.).

Anémie et petits poids de naissance

On sait que la carence en fer est une constante chez toutes les femmes enceintes en Afrique noire et elle est particulièrement présente en zone rurale et ce déficit est majoré par l'infection palustre placentaire (Brunengo et al., 1988 ; Gilles et al., 1969), elle intervient dans l'étiologie de l'hypotrophie fœtale (Olivier et al., 1978 ; Reinhart, 1980). Selon Jilly (1969), une chute de 2 % de l'hématocrite entraîne une baisse de poids du nouveau-né de 100 g., en zone rurale de Côte d'Ivoire la moitié des parturientes ont une hyposidérémie (Reinhart et al., 1978). Nous avons réalisé à Bobo-Dioulasso chez les parturientes en consultation de PMI, une numération sanguine, des dosages de l'hémoglobine et du fer plasmatique, et nous n'avons pas décelé de déficit en fer ni d'anémie (Tableau 8.).

Travail rural et petit poids de naissance

En zone rurale d'Afrique noire, les risques d'anémie et de déficit pondéral à la naissance sont encore plus importants chez les femmes qui assument les travaux des champs en plus des tâches villageoises (Roberts et al., 1983 ; Harrison et al., 1985 ; Mac Cormick, 1985). Pour cela nous avons enquêté sur le poids de naissance et le niveau socio-économique des parturientes qui sont venues accoucher (Tableau 9., enquête de Septembre, effectif de 100 femmes). Nous avons constaté que chez nos parturientes venant accoucher dans ces deux maternités de la ville, la majorité des femmes étaient d'origine urbaine, les autres parturientes d'origine rurale (cultivateurs, éleveurs), étaient venues en ville pour accoucher. :

- artisans / ouvriers	:	32 %
- petits commerçants	:	29 %
- fonctionnaires	:	20 %
- d'origine rurale	:	19 %

Ces observations (pas d'anémie retrouvée chez les parturientes, peu de femmes de notre enquête travaillant aux champs), confortent nos résultats sur l'influence de la parasitémie palustre placentaire à *P falciparum* sur l'incidence des petits poids de naissance à Bobo-Dioulasso.

Tableau 8.**Enquête hématologique pour le dépistage des anémies chez la femme enceinte réalisée au moment des consultations de P.M.I**

Effectif de 54 parturientes : 26 au 1.er trimestre, 17 au 2.ème trimestre et 11 au 3.ème trimestre de gestation

Parité	Effectif (54)	2.e, 3.e et 4.e mois de grossesse			5.e, 6.e et 7.e mois de grossesse			8.e et 9.e mois de grossesse		
		Nb.Gl.Rges	Hb	Fer	Nb.Gl.Rges	Hb	Fer	Nb.Gl.Rges	Hb	Fer
plus de deux gestes	26	4,3	118,3	30	3,95	108,8	23,3	4,2	113,6	19,9
seconde geste	17	4,45	120,6	19,4	4,1	110,4	16,6	4	107,3	15,8
primi geste	11	4,5	121	25,2	3,9	96,6	11,2	4	102,5	27,1

(numération des érythrocytes en M GR par mm³ // Hémoglobine en µg.pour 100.ml // Fer en 6 µml par L)

Résultats : Aucune anémie décelable biologiquement n'a été retrouvée chez ces 54 parturientes, dans cette enquête réalisée en zone urbaine du Burkina-Faso. Par contre, en zone rurale du Mali, Rougemont et al. (1977) ont dépisté des anémies chez des parturientes dès le second mois de grossesse.

(Rougemont et al. – Paludisme et anémie de la grossesse en zone de savane africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1977, 3 : 265-273)**Tableau 9.****Poids de naissance et niveau socio-économique**

Niveau socio-économique (professionnel et culturel)	Effectif de 100 parturientes	Poids moyen de naissance catégories socio- professionnelles	Différence de poids avec le niveau le plus élevé
cultivateurs et/ou éleveurs	19	2.901,5 g.	# de 154 g.
artisans et/ou ouvriers	32	2.990,3 g.	# de 65,2 g.
petits commerçants	29	3.3031 g.	# de 24 g.
fonctionnaires	20	3.055,5 g.	(poids le plus élevé)

(Enquête de Septembre, effectif de 100 femmes)

III.f - LE PALUDISME CONGENITAL

- Fréquence et réalité du paludisme congénital

Le paludisme congénital existe mais il est rare, (Schewtz, 1939 ; Loke, 1982 ; Redd et al., 1996), dans la littérature scientifique, sa fréquence varie en général entre 0,3 % (Covell, 1950) et 7 % (Fisher, 1997), alors qu'elle est de 21 % pour Reinhart et al. (1978). D'autres auteurs comme Archibald (1958), Gilles (1969) et Cannon (1958) ne retrouvent aucun cas de paludisme congénital. Au Nigéria aucun cas de paludisme congénital n'est signalé par Bruce-Chwatt (1952), respectivement sur 332 nouveau-nés, puis chez 117 nouveau-nés de mères paludéennes dont 25 % avaient un placenta infesté par *P. falciparum*. Le critère essentiel pour affirmer ce paludisme néonatal ou « *paludisme congénital maladie* » est de retrouver l'hématozoaire dès la naissance dans les érythrocytes du sang du cordon, affirmant ainsi l'origine congénitale de la transmission ayant causé l'accès palustre néo-natal.

Les premières grandes études ont été réalisées au Sénégal par Anthonioz et al. (1979) et par Correa et al. (1982), avaient montré le caractère fugace de l'infection chez le nouveau-né (la parasitémie trouvée au 2^{ème} jour de vie disparaît ensuite de façon spontanée, en l'absence de tout traitement spécifique). Une première enquête réalisée à la maternité de l'Hôpital de Brazzaville (Carnevale et al, 1985), avait montré la présence de trophozoïtes dans le sang de cordon dans 12,5 % des cas ; mais des prélèvements effectués chez le nouveau-né à J.1, J.15 et J.30 n'ont permis de retrouver l'hématozoaire à J.1 que chez deux nouveau-nés et il n'est plus jamais retrouvé par la suite chez le nouveau-né.

- « Parasitémie congénitale » à Bobo-Dioulasso

Dans notre enquête longitudinale sur 30 mois (Molez et al., 1983 ; Molez et al., 1992 ; Molez et al., 1995), nous avons observé la présence de trophozoïtes de *P. falciparum* dans 12,5 % des sangs de cordon (effectif de 88 prélèvements), mais sans accès palustre par la suite chez le nouveau-né (protégé par des anticorps materno-transmis). Cependant, il faut savoir que les examens microscopiques des frottis demandent un examen attentif (20 minutes à l'objectif 50 à immersion), pour avoir un taux de détection élevé et dépister ainsi les faibles présences de parasites transitant dans le sang de cordon.

Dans notre enquête de Septembre, concernant un effectif de 100 couples mère-enfant, les examens microscopiques (examen du placenta, du sang maternel et du sang de cordon), nous avons observé six cas d'infection des hématies du sang de cordon par *P. falciparum*. Ces

paludisme (cf. **1.ère Partie**). Par la suite, un suivi longitudinal parasitologique n'a pas pu être réalisé (refus la mère, l'enfant n'étant pas « malade ») ; mais à l'interrogatoire aucun de ces six nouveau-nés n'a présenté d'épisode fébrile (ni d'autre signe de clinique de morbidité palustre) au cours des deux semaines qui ont suivi leur naissance.

Ainsi ce passage transitoire de parasites qui est quelquefois dépisté dans le sang de cordon est non seulement lié aux densités parasitaires, mais aussi à la parasitémie circulante maternelle au moment de l'accouchement (Tableau 10 et Tableau 11.). Ces cas de « parasitémie congénitale » sont saisonniers au Burkina-Faso, en rapport avec les fluctuations saisonnières des infections placentaires, de même qu'elles sont en relation avec les variations (saisonnières) des fortes densités parasitaires placentaires (cf. supra : IIIa.).

Paludisme « maladie » et paludisme « infection »

Outre sa fréquence (parasitémie des érythrocytes du sang de cordon), un autre aspect essentiel du paludisme congénital reste sujet à controverse, il s'agit de sa réalité dans le temps. Il nous faut d'abord définir la limite dans le temps à partir de laquelle on ne peut plus affirmer le caractère congénital du paludisme chez le nouveau-né. Pour les épidémiologistes-paludologues, on considère qu'il y a paludisme congénital jusqu'à 15^{ème} jour de vie. De même, les entomologistes-médicaux admettent qu'après la 2^{ème} semaine de vie il y a possibilité de transmission par un anophèle. En effet, il ne faudra plus parler de paludisme congénital à partir du 21^{ème} jour de vie, mais de « *paludisme néonatal* » ou « *paludisme anophélien* » chez ce nourrisson. Ainsi les cas de présence d'hématozoaires constatés par Diallo au 30^{ème} jour et ultérieurement (*in* : Correa et al., 1982), peuvent être considérés comme résultant d'une inoculation du parasite chez le nouveau-né par un anophèle infecté.

Cette « parasitémie congénitale » restera sans suite, car le nouveau-né est protégé par des anticorps antipalustres materno-transmis et d'autre part il possède beaucoup d'hématies avec de l'Hb F qui ne sont pas parasitées par les hématozoaires. Dans le cas contraire, on parlera donc de « *paludisme congénital infestation* », qui se traduit souvent par une parasitémie spontanément régressive, fréquente en zone d'endémie palustre. Le « *paludisme congénital maladie* » est surtout observé en zone de transmission palustre intermittente avec faible stimulation antigénique (taux de piqûres infestantes par homme et par an trop faible) et l'immunité des populations est fragile dans cet écosystème palustre (Bray et al., 1979 ; Brabin, 1983 ; Mac Gregor, 1984 ; Larkin et al., 1991).

Tableau 10.
Parasitémie placentaire et infection parasitaire chez le nouveau né
(a propos de six nouveau-nés ayant présenté une parasitémie circulante)

six N.nés infectés	parasitémie sanguine du nouveau né		parasitémie maternelle au moment de la delivrance		parasitémie placentaire
	nombre de parasites par champs explorés	nombre de glob.rouges parasités par mm.3	nombre de parasites par champs explorés	nombre de glob.rouges parasités par mm.3	nombre de parasites parasités par mm.3
19.ème J.	7 /pour 20chps	7.600 par mm3	4 /pour 200chps	400 par mm3	négatif
26.ème J.	8 /pour 20chps	8.000 par mm3	0	0	négatif
28.ème J.	5 /pour 20chps	5.000 par mm3	4 /pour 20chps	4.000 par mm3	126.000 par mm3
44.ème J.	2 /pour 20chps	4.800 par mm3	6 /pour 20chps	6.000 par mm3	(lame perdue)
48.ème J.	6 /pour 20chps	2.400 par mm3	12 /pour 20chps	12.000 par mm3	négatif
55.ème J.	8 /pour 20chps	3.200 par mm3	4 /pour 20chps	4.000 par mm3	395.000 par mm3

Densité Parasitaire en nombre de parasites par mm³ de sang

(enquête de Septembre, effectif de 100 « couples mère-enfant »)

Tableau 11.

Age, parasitémie circulante et parasitémie placentaire au moment de l'accouchement

(étude particulière à propos de neuf parturientes)

Age des différentes parturientes examinées	parasitémie sanguine circulante		parasitémie placentaire	
	parasitémie* sur frottis / GE	nombre de glob.rouges parasités par mm.3	nbre d'érythrocytess parasités par mm.3	nombre de macrophages avec hémozoïne
18 ans	négatif	0	6.400 par mm3	18 /pour 20chps
20 ans	(++)	3.200 par mm3	78.000 par mm3	5 /pour 20chps
> 30 ans	(+++)	6.400 par mm3	2.000 par mm3	0 /pour 50chps
35 ans	(++)	4.000 par mm3	12.600 par mm3	0 /pour 50chps
20 ans	(+++)	11.000 par mm3	64.000 par mm3	18 /pour 20chps
29 ans	(++++)	28.000 par mm3	36.000 par mm3	0 /pour 50chps
18 ans	(+++)	10.000 par mm3	5.000 par mm3	4 /pour 20chps
22 ans	(+)	4.000 par mm3	39.500 par mm3	13 /pour 20chps
18 ans	(+)	5.000 par mm3	3.000 par mm3	1 /pour 20chps

(*) DP : Densité Parasitaire en nombre de parasites par mm³ de sang

(+) = DP < 5000

(++) = 5.000 ≤ DP < 25.000

(+++)= 25.000 ≤ DP < 50.000

(++++)= DP ≥ 50.000

III.g - L'INTERFACE PLACENTAIRE

- La question du passage actif ou passif

Il existe une certaine « perméabilité placentaire » aux substances normalement présentes dans le sang maternel et aux substances étrangères, par diffusion simple ou bien par l'intermédiaire de molécules porteuses et deux possibilités sont envisageables pour le protozoaire, soit un passage actif soit un passage passif. Concernant la possibilité d'un passage actif, il existe une activité cellulaire de la membrane placentaire (voir Figure 4.), c'est soit une activité de transfert avec intervention de l'épithélium villositaire (le trophoblaste met souvent en évidence le stockage de substances étrangères à la circulation maternelle), soit une activité de phagocytose ou pinocytose.

Il a été démontré que le syncytio-trophoblaste jeune est doué de propriétés phagocytaires et cette faculté disparaît rapidement au cours de la gestation et la phagocytose est peut être un des processus d'absorption des hématies maternelles par le placenta jeune (Alsat et al., 1998). Un examen de la membrane placentaire au microscope électronique a mis en évidence à la surface du syncytio-trophoblaste, de multiples formations vésiculaires, irrégulières, interprétées comme le résultat de l'absorption du plasma maternel de la chambre intervillieuse par un processus de pinocytose (Alsat et al., 1998 ; Malassiné et al., 2000). L'intensité des processus de phagocytose et de pinocytose suivrait une évolution semblable au cours de la croissance placentaire.

La possibilité de passage direct par des solutions de continuité de la membrane placentaire a été envisageable à condition que la membrane placentaire présente des ruptures mettant directement en communication les circulations maternelles et fœtales. Certains auteurs ont décrit et observé comme des "trous" dans les placentas apparemment normaux (Walter et al., 1983 ; Yamada et al., 1989), à travers lesquels pourrait s'effectuer le passage d'hématies maternelles vers la circulation fœtale, avec également le passage d'hématies fœtales par diapédèse au cours du travail (objectivé par la présence d'Hb.F dans la circulation maternelle, par l'iso-immunisation rhésus, etc...). Par ailleurs, dans certaines circonstances pathologiques, il y a présence de déchirures microscopiques de la membrane placentaire, expliquant le passage d'éléments figurés sans qu'il soit nécessaire de faire appel à un mécanisme de diapédèse.

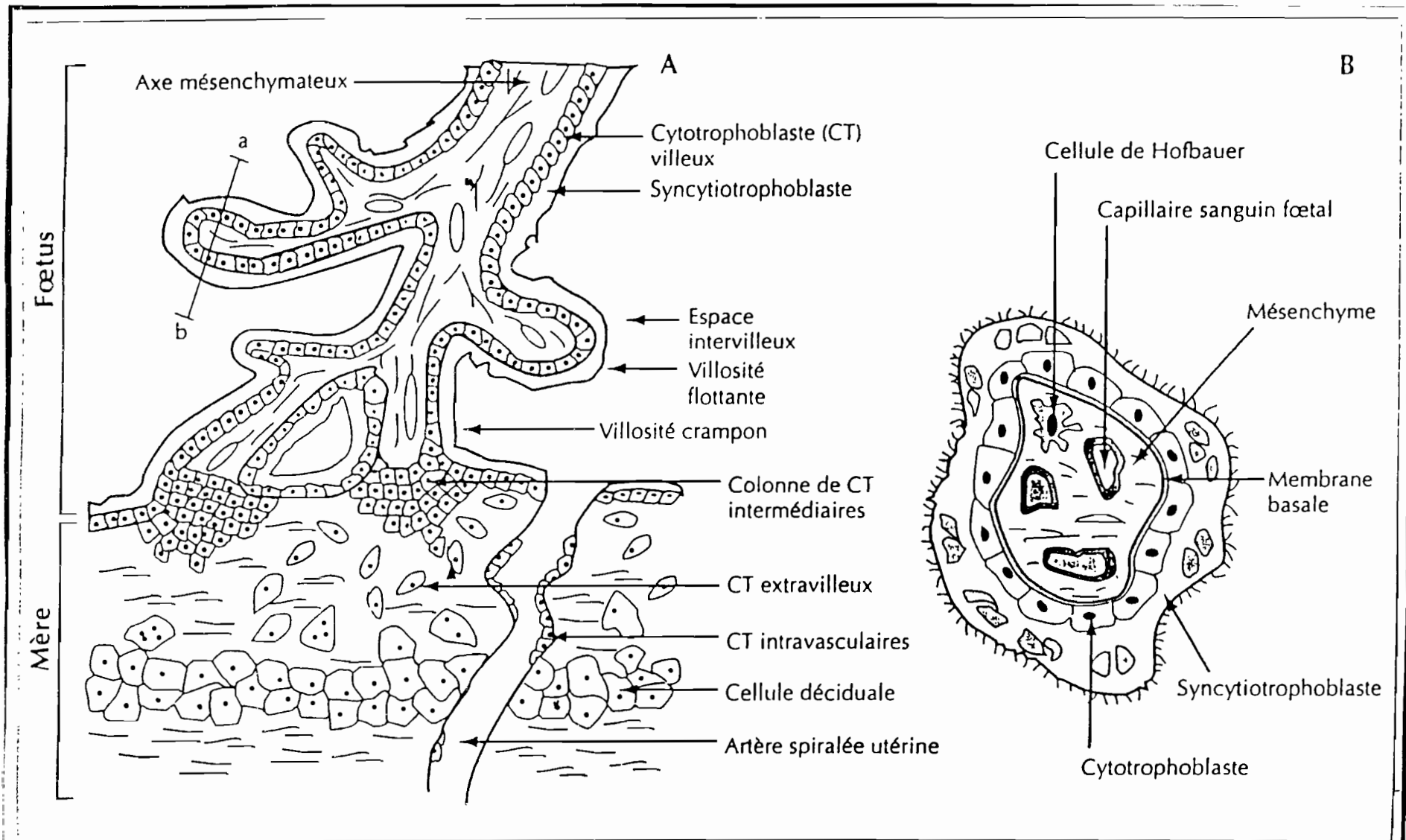


Figure 4.

Structure du placenta humain. A : coupe longitudinale et B : coupe transversale (a → b) d'une villosité choriale.

Alsat (E.) et Evain-Brion (D.). – Le placenta humain : neuf mois d'une Intense activité encore méconnue. *M. T. Pédiatrie*, 1998 ; 1 (6) : 509-516.

- La question des lésions histologiques

Un autre point de controverse concerne la raison pour laquelle la parasitémie à *P. falciparum* présente dans le placenta ou dans le sang périphérique de la mère ne se retrouve que rarement dans le sang de cordon. Certains auteurs sont en faveur de lésions histologiques au niveau du placenta parasité pendant la grossesse, provoquant ainsi le passage du parasite, mais de nombreux auteurs comme Anthonioz et al. (1979), Walter et al. (1981), Loke (1982) et Mc Gregor et al. (1983), sont en faveur d'un passage transplacentaire du parasite sans altération histologique en fonction de la densité parasitaire placentaire (Redd et al., 1996).

Anthonioz et al. (1979), n'ont pu mettre en évidence une altération histologique des placentas parasités avec *P. falciparum*, cependant ils ont observé la présence d'hémozoïne et de trophozoïtes libres dans le trophoblaste et dans les villosités du chorion (sur des préparations histologiques). Nous avons souvent observé ce pigment libre, mais il peut provenir de la destruction de macrophages très chargés en hémozoïne (Bulmer et al., 1993b ; Galbraith, 1980), surtout lorsque la densité parasitaire a été très importante. Alors que pour certains auteurs (Redd et al., 1996) le passage transplacentaire serait étroitement corrélé aux densités parasitaires élevées (au niveau du placenta et au niveau du sang périphérique de la mère), dans nos six cas de « *paludisme congénital infection* » observé au cours de nos enquêtes, trois sont issus d'un placenta parasitologiquement négatif.

Ainsi, dans 50% des cas, lorsque l'on détecte la présence de trophozoïtes de *P. falciparum* dans le sang de cordon, il n'existe pas de parasitémie placentaire (tout au moins non décelable microscopiquement) et l'examen du placenta ne décèle pas de lésions macroscopique (Molez et al, 1983 ; Molez et al, 1995). Ce fait avait déjà été constaté dans notre enquête menée à la maternité de l'Hôpital de Brazzaville (Congo), concernant les 11 cas de parasitémie de sang de cordon, 5 des cas correspondaient à des placentas négatifs (Camevale et al, 1985).

Le passage transplacentaire de l'hématozoaire n'a pas besoin de lésions placentaires (histologiquement décelables), une simple parasitémie du sang périphérique de la mère, au moment de l'accouchement pourrait être suffisante avec passage du parasite lors des microtraumatismes placentaires provoqués par cet accouchement, comme cela est probablement le cas pour le toxoplasme (Couvreux et al., 1977). Dans le cas de cet autre protozoaire, ce serait les contractions utérines au moment de l'accouchement, qui modèleraient le passage des parasites au travers de la barrière placentaire.

- La question du tropisme placentaire

Ce passage transplacentaire (qu'il soit actif ou passif) est favorisé par le tropisme de *P. falciparum*. pour les espaces intervillositaires et en particulier pour la face maternelle du placenta par son adhésion aux syncytio-trophoblastes (ce phénomène de cytoadhérence est observé dans les tissus cérébraux sur les cellules des parois des vaisseaux sanguins). Il a été démontré que la chondroïtine sulfate-A (CSA) à la surface des syncytio-trophoblastes jouait un rôle récepteur pour l'hématie parasitée (Maubert et al., 1997). Les hématies parasitées par cet hématozoaire expriment sur leur membrane des antigènes palustres de surface (des ligands) qui vont s'arrimer à la CSA.

Concernant la gravité particulière de l'infection palustre placentaire et l'intense séquestration des hématies parasitées chez la jeune primipare. La cause est l'absence d'anticorps contre les antigènes du parasite exprimés à la surface de l'hématie parasitée utilisés pour cette cytoadhérence et après une première grossesse avec infection palustre, les parturientes développent des anticorps contre les ligands du parasites liant le CSA (Maubert et al., 1999). Ainsi s'explique pourquoi les jeunes pares (primigestes surtout) sont particulièrement concernées par l'infection placentaire palustre par *P. falciparum* et la moindre sensibilité des multigestes (celles-ci présentent fréquemment des anticorps antipalustres agglutinants).

Cependant, à propos de cette cytoadhérence, on a décrit récemment un autre récepteur se fixant sur l'acide hyaluronique (Labié, 2000), cette molécule serait une protéine membranaire du *Plasmodium*. Comme pour la CSA, la gravité particulière de l'infection chez la primipare, s'expliquerait par l'absence d'anticorps contre les antigènes utilisés pour l'adhérence des hématies. Par contre l'immunité contre les antigènes de l'adhérence endothéliale se serait déjà développée chez le sujet impaludé, les hématies parasitées se fixeraient donc préférentiellement dans le placenta plutôt que dans les autres organes profonds (Labié, 2000).

Ces données récentes expliqueraient la concentration et la séquestration placentaire du parasite avec conjointement une parasitémie circulante négative. Par ailleurs les variations antigéniques de la protéine membranaire de *Plasmodium* (liants pour l'acide hyaluronique) modulerait le tropisme tissulaire (placentaire) des différentes souches de *P. falciparum* ce qui ne s'expliquait pas avec la chondroïtine sulfate-A.

IV./ REACTION CELLULAIRE ET IMMUNE

IV.a - PARASITEMIE ET REACTION MACROPHAGIQUE

- Infection placentaire et réaction macrophagique

La prolifération parasitaire dans le placenta va entraîner une réaction de l'organisme de la parturiente, qui va se manifester par une réaction macrophagique dont l'activité de phagocytose parfois très intense est bien visible sur les préparations microscopiques (Photo 7.). Les nombreux macrophages observés contiennent du pigment malarique (hémozoïne) témoin de l'intense activité phagocytaire (Photo 8.). pour juguler la parasitémie des espaces intervillositaires (Molez et al, 1983).

Les réactions inflammatoires périvillositaires pourraient être causées par les macrophages, car dans le paludisme chronique, ils sont responsables d'infiltrations et de lésions sub-endothéliales (Eling et al., 1983 ; Bulmer et al., 1993a ; Bulmer et al., 1993b). L'hémozoïne (résultat de la polymérisation de l'hème) peut se retrouver dans le tissu placentaire, ainsi on observe des dépôts de granules d'hémozoïne dans les microvillosités du syncytio-trophoblaste (Galbraith et al., 1980 ; Blackwell et al., 1983 ; Boukari et al., 1991).
(cf. supra : cytoadhérence et CSA).

- Réaction macrophagique et âge de l'infection

Nous avons constaté que ce sont chez les jeunes pères (primipare ou seconde par) que l'on va rencontrer les plus fortes densités parasitaires dans le sang des espaces intervillositaires et c'est également chez elles que l'on va observer les plus fortes réactions macrophagiques. Les parturientes multigestes sont plus âgées et ne présentent pas de très fortes charges parasitaires ni de réaction cellulaire aussi intense que les jeunes pères ; la réaction macrophagique envers le parasite est plus tardive et moins forte (Molez et al, 1989).

Chez les « grandes » multigestes la réaction macrophagique est plus précoce et plus efficace. Cette observation a déjà été rapportée au Nigeria par Galbraith et al. (1980) et d'après l'histologie, il semble donc possible de pouvoir évaluer l'ancienneté de la parasitémie d'après l'importance et la qualité de la réaction macrophagique (Galbraith et al., 1980 ; Bulmer et al., 1993a ; Bulmer et al., 1993b).

En couplant ces données avec les informations fournies par l'interrogatoire de la mère (fréquence et la date des épisodes hyperthermiques) on va pouvoir déterminer approximativement la date de l'infection placentaire chez la parturiente (Tableau 12.). On a ainsi observé deux infections placentaires itératives à *P. falciparum* à 15 mois d'intervalle chez une parturiente à l'occasion de sa 1ère et de sa 2ème gestation (Molez et al, 1989). Sur les appositions placentaires, on peut voir des proliférations de macrophages chargés de pigment, sans infection placentaire (Photo 8.), les hématozoaires ont disparu et la parasitémie à *P. falciparum* a été « nettoyée » par l'activité phagocytaire, sur d'autres lames sans parasitisme, ni macrophages, subsiste seulement des dépôts d'hémozoïne dans le trophoblaste, « cicatrice » d'une infection placentaire ancienne.

Tableau 12.

Parasitémie palustre placentaire et traitement antipaludéen

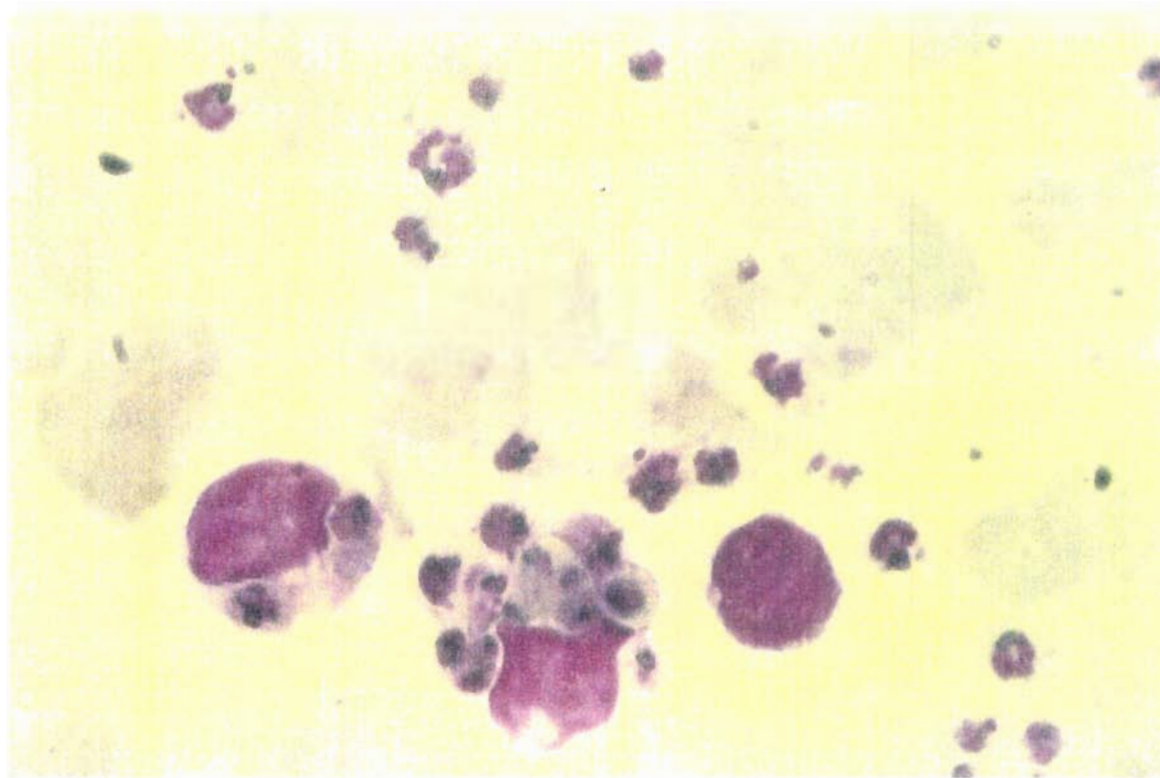
Aspect "aspect" de la parasitémie	de la parasitémie trophozoïtes et schizontes	placentaire rosaces et/ou gamétocytes	en microscopie remarques sur les macrophages	Concordance parasitologie et clinique	Estimation de la date d'infection et infos sur Trait
N° A parasitémie Jeune, GR non pluriparasités	schizontes de tous stades rares trophozoïtes	rares rosaces	Quelques macrophages et hémozoïne intracellulaire	parasitémie récente	épisode hyperthermique au 8ème mois Trait. inconnu
N° B vieille parasitémie rare pluri-parasitisme	qques trophozoïtes agés qques schizontes jeunes	très rares rosaces matures	grosse réaction macrophagique hémozoïne et dépôts d'hémozoïne	vieille parasitémie résiduelle "a bas bruit"	hyperthermie en début de grossesse Trait. Quinimax 0,40 X 3 IM
N° C pluri-parasitisme rare	schizontes de tous stades trophozoïtes tous âges	nombreuses rosaces tous stades	nombreux macrophages avec hémozoïne intracellulaire		hyperthermie du début de grossesse <i>per os</i> : 4 cp
N° D pluri-important	schizontes de tous stades trophozoïtes tous âges	nombreuses rosaces tous gamétocytes immatures	des macrophages d'hémozoïne intracellulaire	parasitémie de la 2.ème de la gestation (6/7ème mois)	épisode hyperthermique Trait. Fansidar <i>per os</i> : 3 cp
N° E GR non pluriparasités	trophozoïtes tous âges schizontes rares	0	des macrophages mais pas d'hémozoïne intracellulaire	parasitémie "basse" chez une multipare	hyperthermie au 8ème mois Trait. Nivaquine <i>per os</i> 2 cp/j x 5j
N° F rare pluri-parasitisme	schizontes et trophozoïtes de tous âges	qques rosaces jeunes	macrophages et peu d'hémozoïne intracellulaire	parasitémie du milieu de la gestation	(pas d'information clinique)

GR = globules rouges

Trait = chimiothérapie antipalustre

Photo 7 : APPLICATION PLACENTAIRE
(empreinte de placenta colorée au Giemsa)

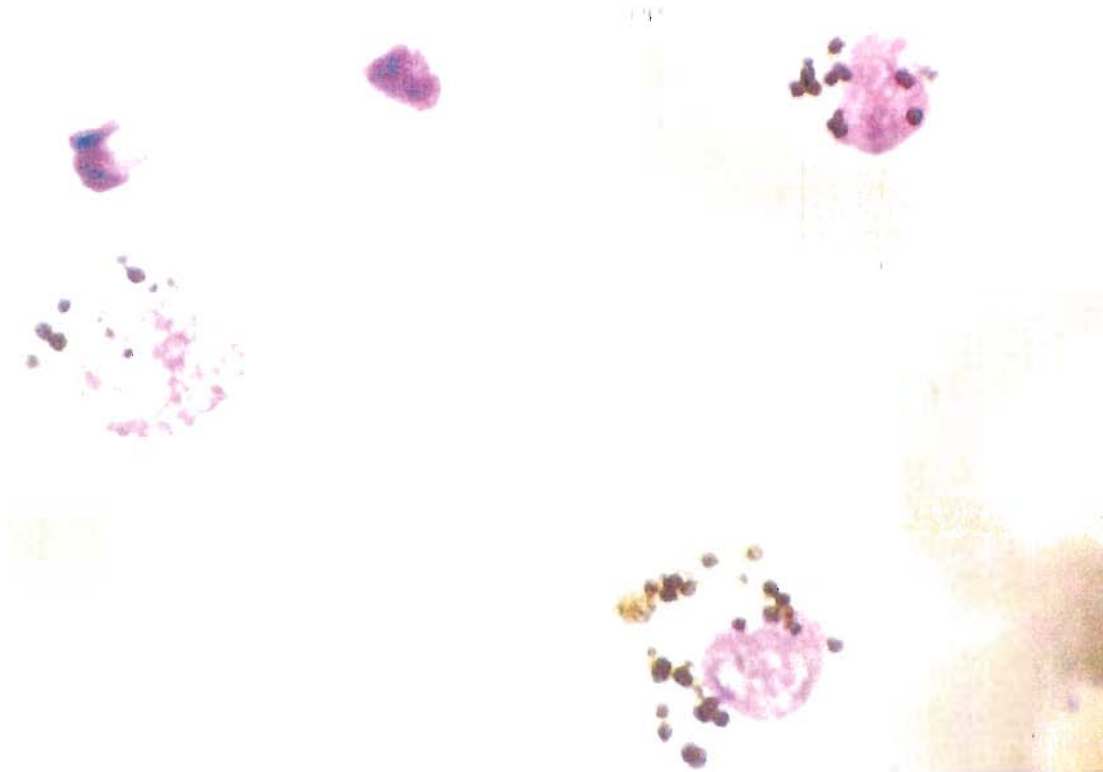
Intense activité macrophagique de phagocytose,
cette forte réaction cellulaire est tardive mais fortes chez les jeunes pères et précoce et moins intense chez les multigestes
(le macrophage central a phagocyté de très nombreux érythrocytes parasités par des schizontes)



PARASITEMIE PLACENTAIRE A *Plasmodium falciparum* DANS LE SANG DES ESPACES INTERVILLOSITAIRES

Photo 8 : APPLICATION PLACENTAIRE
(empreinte de placenta colorée au Giemsa)

La parasitémie placentaire a été nettoyée par l'activité macrophagique,
ne subsiste plus que du pigment palustre intracytoplasmique dans les macrophages ;
Ce pigment va aussi être retrouvé accumulé dans le trophoblaste et dans les villosités du chorion



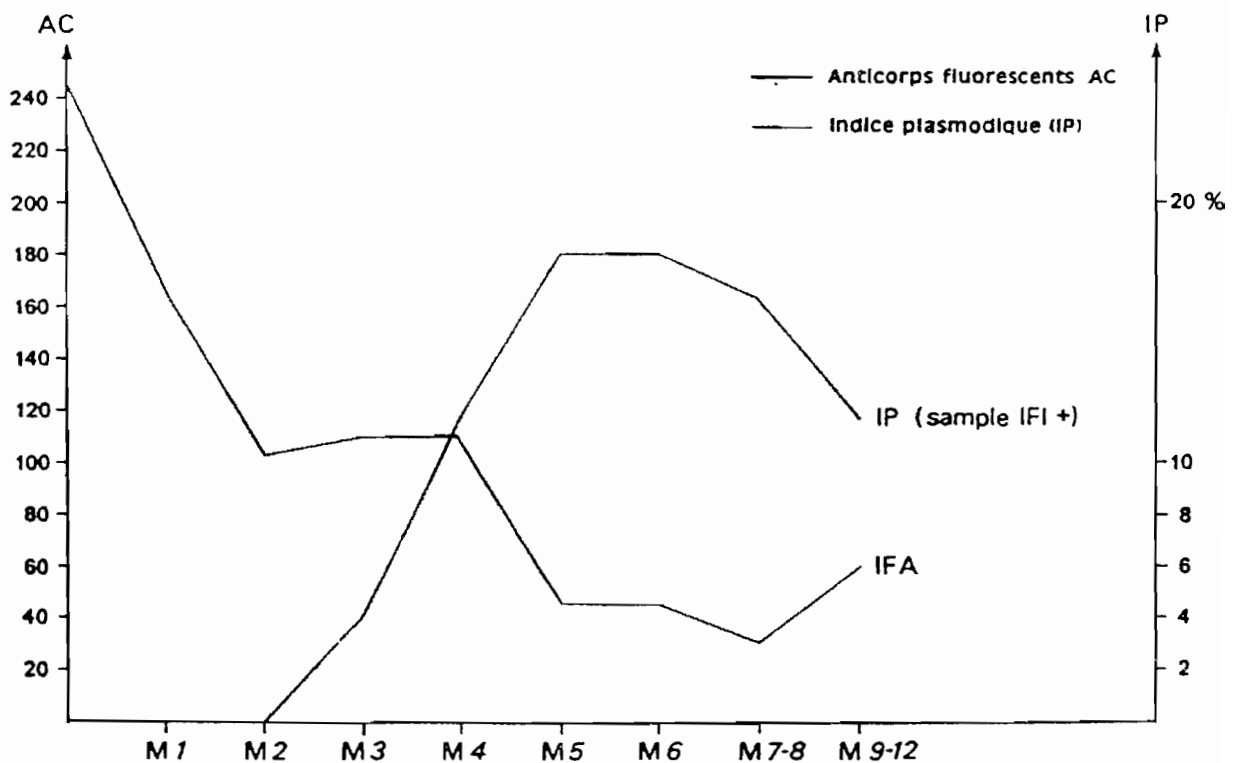
PARASITEMIE PLACENTAIRE A *Plasmodium falciparum* DANS LE SANG DES ESPACES INTERVILLOSITAIRES

IV.b - PARASITEMIE ET REACTION IMMUNITAIRE

- Materno-transmission des anticorps antipalustres

Les immunoglobulines Ig.G maternelles comme cela a été classiquement démontré depuis très longtemps (Kohler et al., 1966), traversent la barrière placentaire et sont retrouvés dans le sang du fœtus et c'est le cas des anticorps antipalustres. Concernant les anticorps antipalustres les enquêtes menées à Brazzaville (Carnevale et al., 1982 ; Tableau 13.) démontrent le croisement de l'immunité materno-transmise avec le démarrage de l'immunité de prémunition chez le nourrisson en zone d'endémie palustre intense et continue.

Tableau 13.
Dynamique des anticorps néonataux
(Enquête à la maternité de l'Hôpital de Brazzaville)



AC : anticorps antipalustres (en TGM) mois indice plasmodique : IP (en %)
(en immunofluorescence indirecte, TGM : taux géométrique moyen)

Les AC materno-transmis disparaissent rapidement des deux premiers mois. Au 4ème mois, on a un croisement avec l'indice plasmodique des premières infections palustres (nous sommes au Congo, en zone d'endémie palustre très intense). Le pic du 4ème mois peut correspondre au cumul des AC materno-transmis avec l'arrivée des Ig.M antipalustres pour les premières infections palustres. Les Ig.M et les AC materno-transmis décroissent et vers la croissance des AC vers le 7ème / 8ème mois peut correspondre à l'apparition des Ig.G antipalustres. L'enfant commence à construire son immunité de prémunition antipalustre.

La materno-transmission des AC dans le sang du cordon sera fonction du taux circulant chez la mère (Gusdon, 1969 ; Bruce-Chwatt, 1985 ; Ibeziako et al., 1980a ; Sombomambo et al., 1989 ; Chizzolini et al., 1991 ; Tanon, 1992 ; Bergstrom et al. 1993 ; Oulai et al., 1996). Pour Rasheed et al. (1993), les taux d'anticorps antipalustres sont similaires (dans le sang périphérique et dans le placenta) quelque soit la parité de la parturiente ou bien le taux des IgG est équivalent, ou plus élevé chez la mère que dans le sang du cordon, que le placenta soit parasité ou non (Cabau et al., 1974 ; Okafor et al., 1979 ; Omanga et al., 1982). Pour d'autres auteurs, le taux des anticorps antipalustres maternels est plus élevé quand le placenta présente encore des parasites détectables sur l'apposition placentaire et s'ils ne sont pas (ou plus) détectables, les taux sont inférieurs (Kohler et al., 1966 ; Paupe et al., 1969a ; Logie et al., 1973 ; Ibeziako et al., 1980a ; Richard-Lenoble et al., 1989). Pour Sylla et al. (1998), le taux des anticorps antipalustres est dans 1/3 des cas inférieur, 1/3 des cas égal ou 1/3 des cas plus élevé dans le sang maternel que dans le sang du nouveau-né.

D'autre part, à Bobo Dioulasso, la transmission palustre est certes continue, mais elle présente des fluctuations saisonnières (cf. **1.ère Partie**) et corrélativement, on va observer des variations saisonnières des anticorps antipalustres maternels et materno-transmis Cette fluctuation de la dynamique des anticorps materno-transmis avec la transmission palustre en Afrique noire a été rapportée par de nombreux auteurs (Mac Gregor, 1974 ; Molineaux et al., 1980 ; Playfair, 1982).

- Age de la parasitémie et types d'anticorps

Dans nos enquêtes sur les anticorps (IgG en IFI) chez les parturientes au moment de l'accouchement, sur les anticorps dépistés en électro-synérèse et l'anticorps Anti-Somatique dépisté en Elisa ne se retrouvent plus dans les « vieilles » parasitémies à *P. falciparum* (des premiers mois de grossesse). On a observé que les parturientes avec un placenta comportant une infection récente (dernier trimestre de grossesse) ont le même « profil sérologique » que les mères ayant un placenta sain à l'accouchement (qu'elles aient ou non une parasitémie sanguine circulante périphérique à *P. falciparum*). Ce sont les infections anciennes qui modifient le profil sérologique des parturientes qui ont un placenta parasité (Tableau 14.). Les plus forts taux d'anticorps anti-palustres (en IFI) se rencontrent lorsqu'il existe une forte réaction macrophagique placentaire, ceci est constaté le plus souvent dans deux cas précis : soit dans les parasitémies anciennes, soit chez la jeune 1ère ou 2ème pare.

Tableau 14.

Anticorps anti-palustres dépistés chez l'accouchée				
Type d'anticorps	Ac (Electro synérèse)	Ac Anti Spe (Elisa)	Ac Anti Som (Elisa)	Ac (IFI)
Type de grossesse				
placenta (-)				
sang circulant (+) ou (-)	+	+/-	+/-	+
placenta (+)				
(3e trim. de grossesse)	+	+/-	+/-	+
sang circulant (+) ou (-)				
placenta (+)				
(1r ou 2e trim de grossesse)	0	+/-	0	+
sang circulant (+) ou (-)				

(Ac Anti Spe = anti-antigène spécifique / Ac Anti Som = anti-antigène somatique)

IV.c - PARASITEMIE ET IMMUNITE MATERNO-TRANSMISE

- Démarrage de l'immunité de prémunition palustre

Les sujets vivant en zone d'impaludation vont acquérir avec l'âge un état de prémunition antipalustre, leur permettant de supporter une charge plasmodiale dans la circulation sanguine jusqu'à un certain seuil (Mac Gregor, 1974 ; Molineaux et al., 1980). Cet état de prémunition est acquis chez le sujet autour de 14 ans en général, selon la dynamique de transmission palustre et le niveau de stimulation antigénique et c'est cette immunité antipalustre que la parturiente va transmettre à son fœtus avant le terme de sa grossesse (Sulzer et al. 1986 ; Agbo-Houenou et al., 1990).

- Recherche des anticorps antipalustres materno-transmis

En sérologie anti-palustre, les différents anticorps antipalustres (Ig.G) materno-transmis que nous avons pu rechercher chez les parturientes de Bobo-Dioulasso sont :

- des Ac antipalustres détectés en IFI
- des Ac anti-Spe détectés en Elisa
- des Ac anti-Som détectés en Elisa

Les anticorps sont materno-transmis, ils sont retrouvés dans le sang de cordon à des taux similaires aux taux maternels et ils vont protéger le nouveau-né de l'infection palustre pendant le premier mois de sa vie (Sulzer et al., 1986 ; Oulai et al. 1996). On a constaté que

leur taux diminue d'une ou deux dilutions à J.30, au delà ils décroissent très rapidement et ils ont totalement disparu à J.60. Cette dynamique avait déjà été retrouvée dans nos enquêtes menées au Congo en zone d'endémie palustre stable (Brandicourt et al., 1987).

Dans le cas d'un nouveau-né issu d'un placenta parasité par *P. falciparum*, les taux géométriques moyens des anticorps antipalustres décelés en IFI sont plus élevés chez l'enfant nouveau-né ayant un petit poids de naissance (< 2500 g.). S'il existe des taux sériques élevés, c'est qu'il a eu un important parasitisme, une densité parasitaire élevée et forte réaction cellulaire macrophagique (Parashar et al., 1977 ; Djibo et al., 2000) et c'est dans ce cas qu'il y a danger d'hypoxie fœtale, de retard fœtal intra-utéro et de déficit pondéral à la naissance chez le nouveau-né.

- La question des immunoglobulines Ig.M

On sait depuis longtemps que les Ig.M antipalustres peuvent être recherché chez le nouveau-né (Roffi et al., 1977 ; Sulzer et al., 1986 ; Oulai et al., 1996). Pour Milko-Sartellet (1998), le taux des Ig.M est plus élevé quand le placenta présente encore des parasites détectables sur l'apposition placentaire. Dans nos enquêtes, on a recherché cette catégorie d'anticorps antipalustres chez la mère et dans le sang de cordon dans une série de 40 couples mère-enfant. Dans cette enquête 32 enfants étaient nés de placentas négatifs (non parasités) et les 8 autres enfants étaient nés de placentas infectés par *P. falciparum*. La recherche des immunoglobulines Ig.M a été effectuée chez tous les nouveau-nés, alors que chez les parturientes cette recherche n'a concerné que les mères ayant présenté un placenta positif.

Chez les nouveau-nés issus d'un placenta négatif, 29 présentent des anticorps Ig.M (tous à des taux faibles de 1/50 ème) et les 13 autres n'en possèdent pas (malheureusement le sang maternel des parturientes correspondant à ces 32 enfants n'a pas été testé pour les Ig.M). Trois de ces 29 nouveau-nés ont pu être retrouvés à J.30 et deux possédaient encore des anticorps Ig.M au même taux faible (1/50 ème). Chez les 8 autres enfants nés d'un placenta infecté, on n'a pas retrouvé d'anticorps Ig.M circulants dans le sang de cordon, alors que ceux-ci sont présents dans le sang circulant chez 6 de ces 8 parturientes (au moment de l'accouchement), à des taux variants du 1/50 ème au 1/800 ème. Les auteurs Oulai et al. (1996), signalent également la présence inconstante d'immunoglobulines Ig.M antipalustres dans le sang de cordon du nouveau-né.

Concernant cette présence d'anticorps Ig.M dans le sang de cordon d'enfants nés d'un placenta non parasité et leur absence dans le sang de cordon d'enfants nés d'un placenta parasité, on peut penser qu'il y a eu contamination du sang de cordon par le sang maternel au moment de l'accouchement. Cependant cette explication est peu probable, car il y aurait contamination pour 29 nouveau-nés sur 42 d'une part, et pas de contamination pour les 8 autres, alors que pour ces derniers un placenta parasité par l'hématozoaire est plus fragile et donc plus sujet aux microtraumatismes de l'accouchement. Concernant les parasitémies placentaires, cette étude qui a porté sur 40 couples mère-enfant comprenait deux catégories de nouveau-nés :

*/ d'une part, on a 32 enfants nés de placentas négatifs : 29 présentaient des Ig.M dans le sang de cordon (mais à faible taux de 1/50 ème) et les 13 autres étaient négatifs. Ces anticorps antipalustres peuvent être de deux origines :

- *soit d'origine fœtale* : on peut penser à une immunisation du fœtus *in utero* avec production fœtale d'Ig.M spécifiques, suite à un passage transplacentaire (actif ou passif) d'antigène plasmodial (hypothèse émise aussi par Oulai et al., 1996),

- *soit d'origine maternelle* : en effet, en théorie les immunoglobulines Ig.M ne traversent pas la barrière placentaire ; cependant, plusieurs auteurs (J-M. Pinon, à propos de la toxoplasmose chez la femme enceinte) ont retrouvé des anticorps Ig.M spécifiques supposés materno-transmis à des taux toujours faibles.

*/ d'autre part, 8 enfants sont nés de placenta positif, ils vont recevoir obligatoirement une quantité importante d'antigènes solubles (du fait de la forte densité d'hématozoaires parasites dans les espaces intervillositaires) « négativant » la recherche d'Ig.M spécifiques. L'absence d'anticorps de type Ig.M dans le sang de cordon peut s'expliquer par la présence d'immuns complexes, les antigènes solubles circulant étant saturants pour les faibles taux d'anticorps Ig.M présents.

- La question des antigènes palustres circulants

Au Gabon Walter et al., (1983), mettent hors de cause le *Plasmodium* (du moins directement) dans les réactions placentaires lésionnelles qui sont observées microscopiquement. Cet auteur soupçonne plutôt un effet destructeur des immuns complexes (où intervient l'antigène palustre soluble circulant), dans le mécanisme pathogénique

atteignant la barrière materno-fœtale. Le mécanisme en cause serait les dépôts fibrinoïdes, avec épaissement et dédoublement de la membrane basale trophoblastique.

On a recherché en électrosynérèse chez plusieurs couples mère-enfant la présence d'antigène palustre circulant dans le sang de la mère et dans le sang du cordon du nouveau-né. S'il n'a pas été possible d'en mettre en évidence dans le sang des cordons analysés, des antigènes circulants ont été retrouvés dans le sang circulant des parturientes. On a constaté en fonction de la parasitémie placentaire à *P. falciparum* :

* / dans les parasitémies placentaires récentes (absence de macrophages chargés d'hémozoïne) ou si le placenta est négatif (à l'examen microscopique) :

ils sont d'un seul type = antigène Ag.C

* / dans les parasitémies placentaires âgées ou anciennes :

ils sont de deux types = antigène Ag.C
et antigène Ag.Sc

Même si aucun antigène circulant n'a été retrouvé dans le sang du cordon, le passage transplacentaire d'antigènes palustres solubles est bien connu (Eaton, 1939 ; Mac Gregor et al., 1968 ; Chizzolini et al., 1991). Ces antigènes solubles peuvent parfois coexister avec des anticorps anti-palustres et ils semblent disparaître assez rapidement (en une semaine), ainsi Druilhe et al. (1976) ont trouvé ces antigènes dans le sang de cordon de nouveau-né. Le sang de cordon est parfois plus riche en antigènes circulants que celui de la mère et ces anticorps persisteraient plus longtemps chez le fœtus que chez la mère. Il se pourrait que ces antigènes solubles materno-transmis induisent un phénomène de tolérance immunitaire.

Les différents antigènes circulants de *P. falciparum* détectés dans la circulation sanguine sont maintenant de plus en plus étudiés pour la recherche d'un « candidat vaccinant » pour des travaux expérimentaux de mise au point d'un vaccin antipalustre contre cet hématozoaire (Garraud et al., 1999).

IV.d - PARASITEMIE ET SEROLOGIE FŒTO-NATALE

- Démarrage *in utero* de l'immunité anti-palustre

Concernant cette présence chez le nouveau-né d'antigènes antipalustres solubles materno-transmis, on est en droit de se demander à propos de ces antigènes :

*/ peuvent-ils induire une tolérance immunitaire chez le nouveau-né ? Ceci expliquerait que le jeune enfant africain soit capable de supporter les fortes charges parasitaires sans signes de morbidité clinique, que l'on est amené parfois à observer sur les frottis sanguins de très jeunes enfants. Il y aurait inhibition dans la fabrication des anticorps contre les antigènes reçus *in utero* (comme cela a été vu avec *P. gallinaceum* par Dorris et al. (1975). On peut supposer que les stimulations antigéniques répétées du jeune âge (en zone de transmission à *P. falciparum* permanente ou si la naissance se produit en période de transmission saisonnière) ne ferait que renforcer ce phénomène de tolérance chez l'enfant.

*/ peuvent-ils induire dès la vie utérine le démarrage d'une immunité antipalustre fœtale (*in utero*). Cette immunité modifiant le seuil de tolérance aux densités parasitaires comme chez l'adulte immun qui ne présente de signes cliniques qu'à partir d'un certain degré de parasitémie sanguine à *P. falciparum* (notion de seuil clinique et de seuil de densité parasite). Etant donné qu'il existe une dynamique immunitaire fœtale (Gudson, 1969 ; Paupe et al., 1969b), en zone d'endémie palustre, le démarrage d'une immunité anti-plasmodiale *in utero* chez le fœtus est tout à fait envisageable.

Dans le cas du paludisme, il est admis que les antigènes solubles circulants peuvent être materno-transmis *in utero* au fœtus, que la mère présente ou ne présente pas d'infection palustre placentaire. En zone d'endémie palustre, pendant les neuf mois de grossesse, la parturiente aura nécessairement l'occasion de développer une ou parfois plusieurs parasitémies sanguines à *Plasmodium* avec libération d'antigènes circulants. Dans les populations à hauts risques (zone de transmission palustre permanente) un tel processus d'immunisation naturelle transplacentaire peut constituer un moyen irremplaçable de protection du nouveau-né contre le paludisme (néonatal et au cours des premiers mois de sa vie). On peut supposer que cette dynamique d'immunisation anti-palustre existe bien en zone d'endémie palustre à *P. falciparum* en Afrique noire.

- Saisonnalité de l'immunité materno-transmise

Les anticorps materno-transmis vont varier avec les taux sériques de la mère et plus les taux d'anticorps anti-palustres seront élevés chez la mère, plus leurs taux seront importants à la naissance dans le sérum de l'enfant (Brandicourt et al., 1987). Ces anticorps maternels sont moins élevés en saison sèche (période de moindre transmission palustre qu'en saison des pluies (période de transmission intense) (cf. **1.ère Partie**),

Pendant la saison des pluies, période de forte transmission palustre à *P. falciparum*, il existe une forte stimulation antigénique par les nombreuses piqûres infectantes d'anophèles (cf. **1.ère Partie**) ; ainsi, en fin de saison des pluies, toutes les femmes (qu'elles aient ou non un placenta parasité par l'hématozoaire) présentent des taux élevés d'anticorps antipalustres, on n'a pas observé (Tableau 15.) il n'existe pas de différence chez ces deux catégories de parturientes quelles aient un placenta impaludé ou non (constaté par l'étude des taux géométriques moyens des anticorps antipalustres étudiés en IFI). Par contre en saison sèche on constate une chute des taux d'anticorps maternels (taux géométrique moyen des anticorps en IFI) chez la mère et le nouveau-né (Tableau 16.). Par la suite, en début de saison des pluies, la stimulation antigénique est faible, la population anophélienne est « jeune », elle n'est pas épidémiologiquement dangereuse, c'est un à deux mois plus tard (cf. **1.ère Partie**) que l'immunité antipalustre va être relancée par les piqûres infectantes.

En fin de saison des pluies, les mères « sortent » de la période de forte transmission palustre, on peut tout à fait estimer qu'au moins 80 % d'entre elles sont ou ont été impaludées, c'est la période où les infections palustres placentaires sont très fréquentes et les densités parasitaires du sang des espaces intervillositaires très importantes (cf. supra : IIIa et IIIb.). Les nouveau-nés des parturientes présentant une infection palustre placentaire vont avoir plus d'anticorps antipalustres materno-transmis lorsqu'ils ont souffert de la parasitémie pour leur croissance fœtale (taux géométriques moyens des anticorps antipalustres étudiés en IFI). Les nouveau-nés avec un petit poids de naissance (< 2 500 g.) ont des taux plus élevés que les nouveau-nés sans déficit pondéral (Tableau 17.), la réaction immune est donc corrélée avec la parasitémie, avec la réaction macrophagique et aux conséquences fœtales (Tableau 18.). Une parturiente ayant mis au monde un nouveau-né mort né présentait une parasitémie de 75% des érythrocytes du sang intervillositaire et ses taux d'anticorps étaient très élevés (Tableau 17.)

Ainsi, selon la période de transmission, les nouveau-nés vont donc posséder un « degré de protection antipalustre immuno-transmis » plus ou moins important (quantitatif et/ou qualitatif) (Carnevale et al, 1982 ; Molez et al., 1982). Il faut surtout remarquer que les enfants qui naissent en début de saison des pluies (en juin) de mères ayant des taux sériques diminués par la saison sèche, vont naître en plein début de période de transmission palustre à *P. falciparum*. Ces enfants seront déficients en anticorps antipalustres materno-transmis, les risques de mortalité infantile due au paludisme seront plus élevés (Carnevale et al, 1982 ; Carme et al., 1988). Pour ces nouveau-nés, il conviendra d'établir un protocole chimioprophylactique qui soit adapté à ce « iatus épidémiologique saisonnier ».

Tableau 15.

Anticorps anti-palustres et parasitémie placentaire (période : mi-Nov / mi-Fév)		
Placentas	TGM mère	TGM N-né
parasités (n = 7)	1.335	600
non parasités (n = 41)	1.445	800

(TGM : taux géométriques moyens)

Tableau 16.

Saisons, anticorps anti-palustres et parasitémie placentaire			
Parasitémie placentaire et saison		TGM Mère	TGM N-né
accouchement = en : Déc-Mai	grossesse en saison des pluies	1.445	600
accouchement = en : Juin-Nov	grossesse en saison sèche	700	200

(TGM : taux géométriques moyens)

Tableau 17.**Parasitémie placentaire, déficit pondéral et anticorps anti-palustres**

T.G.M. des AC antipalustres en I.F.I. et poids de naissance avec infection à *P.falciparum* pour les mois de naissance en période de déficit pondéral (Nov. Déc. Janv. Févr.)

poids de naissance et infection placentaire	moyenne des TGM chez le N-né	moyenne des TGM chez la mère
N-nés de poids > 2 500 g. (effectif : 20)	200	700
N-nés de poids < 2 500 g. (effectif : 7)	600	1.240
N-nés décédés (*) de poids < 2 500 g. (effectif : 2)	(non prélevés)	3.110

(*) : un N.né mort dans les heures suivant la naissance, et un N.né expulsé mort alors que les BdC foetal étaient perceptibles en début d'accouchement

Tableau 18.

parasitémie placentaire et ses effets ou conséquences chez la mère et le nouveau-né

- parasitémie maternelle circulante
- réaction macrophagique
- anticorps anti-paludéens
- parasitémie du cordon
- petit poids de naissance

	ASPECT DU PLACENTA		PARTURIENTE		NOUVEAU NE	
	aspect de la parasitémie	aspect de la réaction macrophagique	sérologie palustre en IFI	parasitisme sanguin (sang circulant)	parasitisme sanguin (sang de cordon)	poids de naissance du nouveau né
infection du dernier trimestre de grossesse	pas ou rare pluriparasitisme trophozoïtes et schizontes	présence de macrophages pas de pigment palustre	IFI toujours positive	presque toujours négatif	presque toujours négatif	souvent déficit pondéral
infection du premier trimestre de grossesse	pluriparasitisme tous stades parasitaires rosaces fréquentes	macrophages nombreux et pigment palustre important	sérologie IFI parfois négative	négatif ou présence de gamétocytes	parasitisme inconstant	poids dans les limites de la normale

V./ PARASITEMIE ET HEMOGLOBINE

V.a - LE POLYMORPHISME DES HEMOGLOBINES

- L'Afrique et son polymorphisme hémoglobinique

L'association du gène de l'hémoglobine anormale Hb S de la drépanocytose et du paludisme à *P. falciparum*, est devenue « l'exemple classique » de la sélection naturelle chez l'homme, et l'illustration du concept de polymorphisme équilibré (Rapert, 1956 ; Allison, 1954 ; Allison, 1964). Un tel gène déterminant à l'état homozygote une affection peu compatible avec la vie adulte, devrait disparaître au fil des générations. Il n'en est rien et certains auteurs ont proposé pour expliquer son maintien un avantage sélectif des hétérozygotes AS vis-à-vis du paludisme en Afrique noire (Luzatto et al., 1970 ; Fleming, 1979 ; Pasvol, 1980 ; Cabannes et al., 1984).

Ce polymorphisme est particulièrement intéressant au Burkina-Faso, car les anthropologues maintenant ont de forts arguments pour dire que « le Plateau Voltaïque » serait le point d'origine de l'hémoglobine Hb C qui est caractéristique de l'Ouest africain (Cabannes et al., 1984 ; Pagnier 1984a ; Nagel et al., 1985).

- La spécificité du Plateau Voltaïque

Des typages de l'hémoglobine ont été réalisés pour évaluer l'importance de la drépanocytose les populations, l'enquête de Septembre a permis une étude par électrophorèse des hémoglobines et a démontré qu'il existait bien un important polymorphisme hémoglobinique en en Afrique de l'Ouest. (Devoucoux et al., 1991). Au Burkina-Faso, les hémoglobine C et S sont les principales hémoglobinopathies qualitatives pouvant être dépistées dans les populations la région de Bobo-Dioulasso. Ce polymorphisme hémoglobinique est distribuée de la façon suivante :

AA	+/- 70%	SC	+/- 0,1%
AC	16 à 17%	SS	+/- 1%
AS	8 à 11%	CC	+/- 1,5%

Par ailleurs, nous avons étudié le sang de cordon des nouveau-nés, pour y rechercher des hémoglobinopathies quantitatives, avec troubles de la biosynthèse des chaînes (ce sont les thalassémies). Une première série d'analyse de 34 échantillons de sang de cordon traités en

électro-focalisation nous a permis de retrouver l'important polymorphisme hémoglobinique bien connu sur le Plateau Voltaïque.

Tableau 19.

Résultats de l'étude de 34 sangs de cordon en électrofocalisation (*)			
		25 AA	
à l'examen qualitatif de l'Hb	=	5 AC	
		3 AS	
		1 SS	
		six excès en production	dont trois suspicions
à l'examen qualitatif des chaînes	=	de chaînes gamma	d'alpha-thalassémie mineure
		deux suspicions de bêta thalassémie	
(*) après hémolyse + KCN et dilution à 1,25 %, conditions de migration : 10 watts et 1.500 volts gel d'acrylamide avec gradient de Ph : 4,5 – 9,5			

Une seconde série d'analyses d'échantillons de sang de cordon axée sur la recherche des alpha-thalassémies mineures (voir Figure 5.) dans les materbités de Bobo Dioulasso, nous a montré que pour 207 échantillons de sang de cordon traités en électrofocalisation, 17,6 % des nouveau-nés possédaient de l'hémoglobine Bart's. La présence de trétamères x.4 dans le sang de cordon, témoigne à la naissance de l'inactivité d'un ou de plusieurs gènes alpha, en Afrique occidentale, il s'agit de thalassémies mineures : x -Thal.2 (-x/xx) et x-Thal.1 (-x/-x), non décelables cliniquement.

Cette enquête nous a ainsi permis de préciser la fréquence extrêmement élevée au Burkina-Faso de cette anomalie quantitative de l'hémoglobine qu'est l'alpha-thalassémie. Les thalassémies mineures (alpha-thalassémie ou bêta-thalassémie) sont présentes dans tout l'Ouest africain (Cabannes et al., 1984 ; Abdalla et al., 1989).

V.b - HEMOGLOBINOPATHIES ET PALUDISME

- Drépanocytose et paludisme

Différentes enquêtes sur les relations entre la parasitémie palustre et les hémoglobinopathies ont été conduites en zone d'endémie palustre d'Afrique noire ((Devoucoux et al., 1991 ; Michel et al. 1981 ; Vaisse et al. 1981), pour étudier le polymorphisme hémoglobinique en relation avec les parasitémies palustres placentaires. Ainsi, dans les différents faciès qui ont été étudiés :

*/. en forêt équatoriale : en faciès de forêt secondaire dégradée en R.P. du Congo
 en faciès de savane arborée en R.P. du Congo

*/. en zone soudano-sahélienne : au Burkina-Faso et au Niger

on a constaté qu'il n'existait pas réellement de différence au sujet de l'infection palustre chez les enfants africains en fonction de leur génotype hémoglobinique (Molez, 1993). A Brazzaville, en zone de transmission palustre intense et continue (Michel et al. 1981 ; Vaisse et al. 1981), il n'a pas été retrouvé de différence chez les sujets homozygotes AA et les hétérozygotes AS et AC (les pourcentages ne diffèrent pas significativement). De même, notre étude menée à l'Hôpital de Brazzaville (Molez et al., 1982b) a montré que les homozygotes SS sont infectés par l'hématozoaire du paludisme comme les autres enfants.

Lors de nos enquêtes sur les parasitémies placentaires dans les maternités, effectuées à Bobo-Dioulasso nous avons réalisé un typage de l'hémoglobine sur un échantillon de parturientes (Tableau 20.)

Tableau 20.
Génotype hémoglobinique de la mère et parasitémie placentaire palustre
 (enquête de septembre dans les maternités de Bobo-Dioulasso)
 Electrophorèse de l'hémoglobine sur plaque d'acétate de cellulose

Génotype hémoglobinique	Effectif	nombre de mères GE (+)	nombre de placentas (+)
AA	46	38	9
AC	15	10	0
AS	9	5	0
SC	1	1	0
non classé	29	12	2
TOTAL	100	60	11

GE = examen microscopique de la goutte épaisse (sang circulant)
 « non classé » = Hb dégradée dans le prélèvement sanguin
 (+) = parasitémie palustre positive à *P. falciparum*

Les enquêtes effectuées à Bobo-Dioulasso sur les parasitémies placentaires, confirment nos résultats obtenus dans différents autres pays d'Afrique noire (Carnevale et al., 1981 ; Carnevale et al., 1984), comme quoi, ni la prévalence, ni les charges parasitaires avec *P. falciparum* n'apparaissent comme significativement différentes chez le drépanocytaire (Molez, 1993). D'autres auteurs ont observé « une protection partielle » chez les drépanocytaires vis à vis du paludisme (Cornille-Brogger et al., 1979 ; Brabin et al., 1985 ; Fleming et al., 1985), mais n'ont-ils pas voulu mettre en doute l'hypothèse de Allison. La diversité des manifestations cliniques chez les porteurs d'HbS fait soupçonner chez ces sujets un polymorphisme hémoglobinique sous-jacent. Ainsi, il se confirme que les

relations paludisme-drépanocytose ne sont pas aussi simples qu'on pouvait le penser et que d'autres facteurs hémoglobiniques doivent intervenir pour expliquer le maintien du gène de l'Hb S en zone d'endémie palustre d'Afrique noire (Molez, 1993).

- Thalassémie mineure et paludisme

L'étude en électrofocalisation du sang de cordon (Figure 5.) permet de rechercher de l'hémoglobine Bart's (plus facilement décelée à la naissance) qui signe l'existence d'une alpha-thalassémie mineure (si elle est présente avec une teneur supérieure à 1 %). La grande fréquence de l'Hb Bart's en Afrique noire a été mise en évidence par de nombreux auteurs, en Afrique de l'Ouest (Folayan, 1972 ; Streinberg et al., 1975 ; Pagnier et al., 1984b ; Adeline et al., 1993) comme en Afrique équatoriale (Baelen et al., 1969 ; Esan, 1970).

Au Congo, où il existe une forte prévalence de drépanocytaires, on a constaté qu'un quart des nouveau-nés présentaient de l'hémoglobine Bart's dans le sang de cordon (Lallemant et al., 1986). Au Burkina-Faso, on a également constaté que la fréquence des alpha-thalassémies n'était pas négligeable, puisque nous avons trouvé que 17,6 % des nouveau-nés possédaient de l'hémoglobine Bart's dans leur sang de cordon. Il faut savoir que l'alpha-thalassémie modifie profondément le phénotype lié à l'hémoglobine S, notamment chez le sujet homozygote SS, elle modifierait aussi la biologie et l'évolution clinique de la maladie drépanocytaire (Streinberg et al., 1975 ; Higgs et al., 1982 ; Gini et al., 1989 ; Adeline et al., 1993). D'autre part, *P. falciparum* préfère parasiter les érythrocytes jeunes, ceux-ci sont surtout thalassémiques et ils ont une survie réduite, d'autre part, selon Yuthavong et al. (1997), il y aurait diminution des antigènes palustres exprimés à la surface des hématies thalassémiques parasitées (et moins de cytoadhérence et de neuropaludisme, cf. supra : III d).

Comme l'avantage des hétérozygotes drépanocytaires reste nécessaire pour expliquer le maintien du gène dans la population africaine et comme la drépanocytose a elle seule ne protège pas de l'infection palustre, on peut envisager que c'est l'interaction de ces deux anomalies de l'hémoglobine (Hb S et alpha-Thal) qui pourrait expliquer le maintien des hétérozygotes AS dans la population (avec ou sans l'intervention du paludisme). Cette hypothèse a été émise la première fois par Willcox (1982), cependant elle a été très peu reprise et étudiée par la suite. Par ailleurs, on a observé sur modèle animal (rongeurs infectés par un *Plasmodium murin*), que les alpha-thalassémies mineures résistent mieux à l'infection palustre en présentant des densités parasitaires circulantes bien moindre que les individus normaux (Lapp et al., 1982).

Figure 5.

Etude du sang de cordon en électrofocalisation

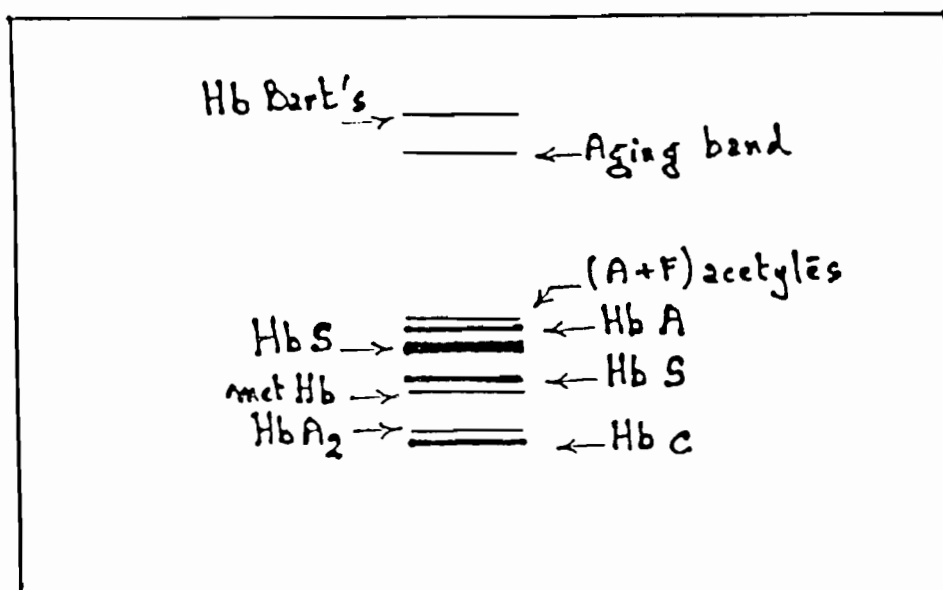
Préparation de l'échantillon de sang :

prélèvement sur anticoagulant au moment de l'accouchement
centrifugation du sang de cordon
hémolyse par de la saponine
+ KCN
dilution à 1,25 %

Technique d'électrophorèse :

gel d'acrylamide :
gradient de Ph : 4,5 – 9,5
conditions de migration :
10 watts et 1.500 volts

Résultat de l'électrophorèse :



L'électrofocalisation du sang de cordon permet de rechercher de l'hémoglobine Bart's (plus facilement décelée à la naissance) qui signe l'existence d'une alpha-thalassémie mineure (si elle est présente avec une teneur supérieure à 1 %).

VI./ TYPAGE BIOCHIMIQUE DES PARASITES

VI.a - TYPAGE DE L'HEMATOZOAIRE

- Isozymes de *Plasmodium falciparum*

Les parasitémies placentaires fournissent un formidable matériel d'étude pour le typage biochimique de l'hématozoaire à partir des isoenzymes selon un protocole maintenant bien au point (Beale et al., 1988a ; Beale et al., 1988b ; Walliker, 1982), la concentration en parasites est telle qu'il est facile de préparer d'assez grandes quantités de concentrés d'hématozoaires. Le protocole technique pour préparer du matériel pour des zymogrammes a été mis au point dans un précédent travail réalisé au Congo sur le typage de *P. falciparum* extrait de placentas parasités récoltés en salle d'accouchement à l'Hôpital de Brazzaville (Molez et al., 1984 ; Sanderson et al., 1981).

Ce typage biochimique par les isoenzymes permet de distinguer différentes souches géographiques au sein d'une même espèce d'hématozoaires, en Afrique centrale, il apparaissait que l'enzyme Peptidase-E permettait de distinguer les souches de *P. falciparum* de l'Est de celles de l'Ouest africain (avec la Pep-E.1 et la Pep-E.3) (Walliker, 1985 ; Walliker et al. 1987 ; Creasey et al., 1990).

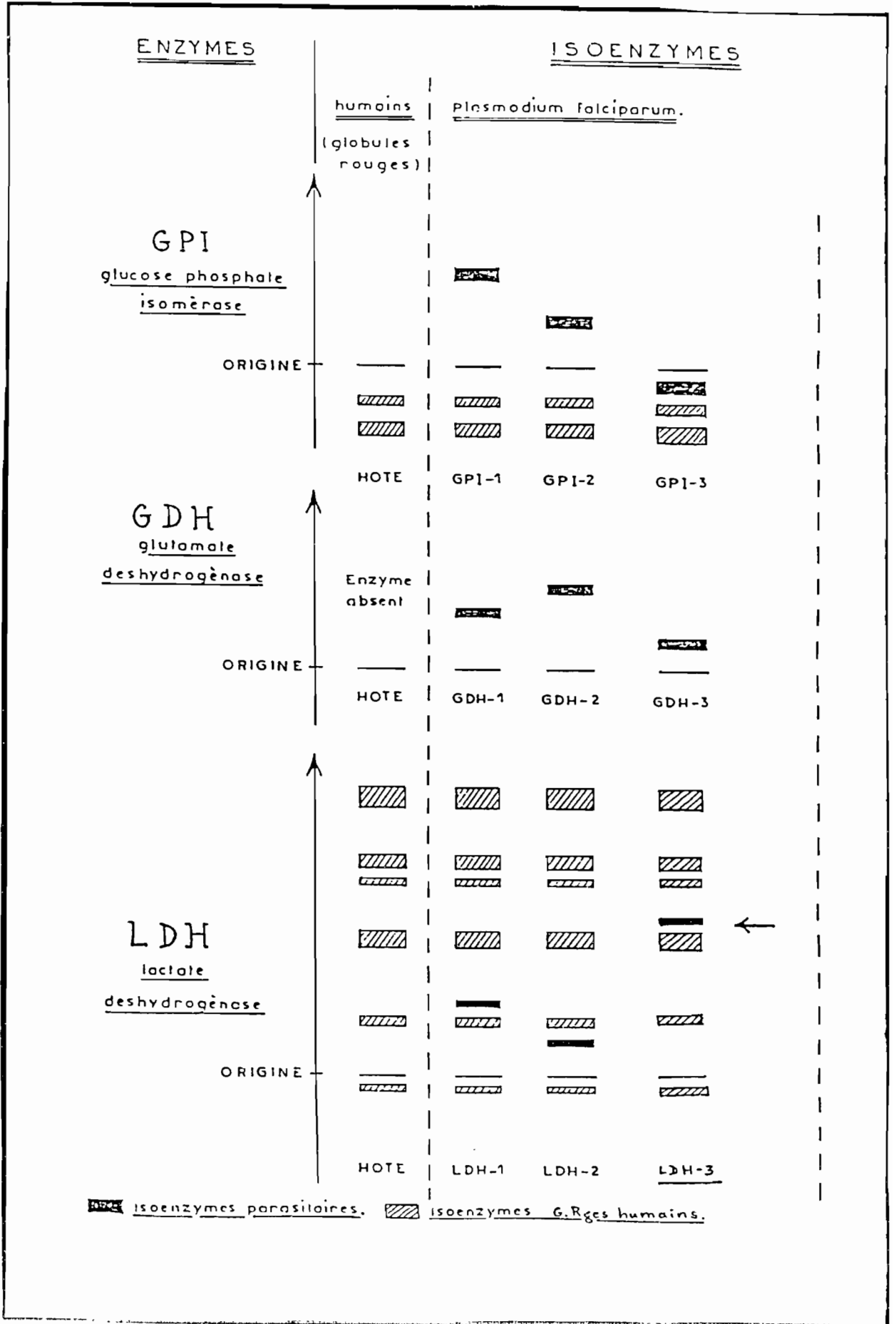
- Isozymes des souches placentaires

A Bobo Dioulasso, différents zymogrammes ont été réalisés sur les hématozoaires extraits de placentas parasités, pour essayer de typer les souches de *P. falciparum* d'Afrique de l'ouest. Ils ont été réalisés sur 18 extraits (les zymogrammes concernant la 6-PGD et la PEP n'ont pas été réalisés dans notre laboratoire), ils ont concerné les isoenzymes suivants :

la 6-PGD	(6 phosphogluconate-deshydrogénase)
la PEP-E	(peptidase-E)
la LDH	(lactico-deshydrogénase)
la GPI	(glucose-phosphate-isomérase)

Les résultats des zymogrammes pour l'enzyme LDH confirment les résultats de Brazzaville (Molez et al., 1984 ; Sanderson et al., 1981), avec une plus grande fréquence de l'isozyme LDH-1 vis à vis de l'isozyme LDH-2. Cependant, d'après nos résultats il semblerait qu'à Bob-Dioulasso, il existe un nouvel isozyyme concernant la lactico-deshydrogénase de *P. falciparum* et nous avons appelé cet isozyyme : LDH-3 (Figure 6.).

Figure 6.



Seuls sont connus LDH-1 et LDH-2 de zones de forêt équatoriale (Congo), de l'Ouest-africain (Gambie) et de l'Est-africain (Tanzanie) (Walliker, 1985). L'analyse de l'enzyme GPI, confirme les résultats obtenus à Brazzaville, ainsi l'isozyme GPI-1 possède la même fréquence que l'isozyme GPI-2 (Brazzaville : 5 GPI-1 pour 7 GPI-2, Bobo-Dioulasso : 5 GPI-1 pour 7 GPI-2).

VI.b – ISOZYMES ET INFECTION PLACENTAIRE

- Polymorphisme de la parasitémie circulante

Quand on met en culture un mélange de souches (à partir d'un prélèvement de sang périphérique effectué chez un paludéen), il va se développer en culture *in vitro* une souche qui va prédominer et supplanter les autres qui vont disparaître (dans un mélange de clones on a des isozymes associés en électrophorèse ex : GPI-1 + GPI-2, ou LDH-1 + LDH-2, etc...). Ces constatations ont été effectuées par Walliker à l'aide des zymogrammes (Walliker, 1982 ; Walliker et al., 1987).

Il peut donc y avoir « mélange de souches » dans un accès palustre, soit parce que l'on peut être piqué par plusieurs anophèles porteurs de sporozoïtes (en zone où la transmission palustre est intense, on a plusieurs piqûres infectantes par homme et par nuit), soit un seul anophèle infectant peut être porteur de sporozoïtes appartenant à plusieurs souches d'hématozoaire *P. falciparum*.

- Infection placentaire est-elle monomorphe ?

Les résultats des analyses isoenzymatiques effectués sur les parasites extraits de placentas semblent confirmer que dans ce cas de parasitémie importante et profonde (placentaire), il n'y aurait qu'une seule souche présente et non pas un mélange de souches de *P. falciparum*. Ceci avait déjà été constaté sur les souches placentaires étudiées au Congo. Ainsi les pluriparasitémies sanguines que l'on démontre par typage biochimique dans le sang circulant de l'homme en accès palustre ne semblent pas se retrouver dans le placenta. On peut supposer que dans cette parasitémie profonde, il y aurait prédominance d'une souche de l'hématozoaire *P. falciparum* sur les autres qui sont présentes au même moment et ceci est à rapprocher des observations effectuées en cultures *in vitro*.

On a donc constaté que la parasitémie plasmodiale placentaire devait être « monomorphe ». car on n'a pas observé de polymorphisme en typage biochimique avec les isoenzymes. Cette infection placentaire se serait donc développée à partir d'une seule

souche de *P. falciparum* et elle va persister chez la parturiente, parfois jusqu'à l'accouchement.

Cependant, on peut se demander si la femme enceinte va pouvoir faire des accès palustres (parasitémie circulante périphérique) à partir d'autres souches inoculées (par des piqûres d'anophèles), sans que soit modifié l'aspect (monomorphe) de sa parasitémie placentaire profonde ? Par ailleurs, des « sorties » de parasites hors du placenta (avec un stade trophozoïte un érythrocyte peut se déformer pour sortir des espaces inter-villositaires), doivent obligatoirement s'effectuer. Les hématozoaires « d'origine placentaire », peuvent-ils venir se mêler à une autre parasitémie circulante dans le sang périphérique, inoculée par un vecteur anophélien infecté avec une autre souche ? Les travaux actuels de biologie moléculaire pour le typage des souches de *Plasmodium* devraient pouvoir apporter des éléments pour répondre à cette question.

VII./ LES STRATEGIES DE PROTECTION

VII.a - CHIMIO-PROTECTION ET INFECTION PALUSTRE

- Chloroquinisation et chloroquinorésistance

En Afrique noire, en zone d'impaludation, le diagnostic d'accès palustre s'effectue souvent à partir des signes de morbidité clinique (Baudon et al.(Molez), 1984). En cas de suspicion d'accès palustre clinique, le diagnostic biologique parasitaire est rarement effectué (diagnostic de présomption palustre), le traitement thérapeutique est donc en général présomptif (surtout en zone rurale). Cette démarche va nécessairement aboutir à un abus d'utilisation d'antipaludiques et en particulier de la chloroquine (Nivaquine®) qui est la molécule la plus employée dans toute l'Afrique noire intertropicale (Anonyme, 1994a ; Débat-Zoguéréh et al., 2000).

C'est la pression médicamenteuse qui est le facteur essentiel qui a favorisé l'apparition la chimiorésistance antipalustre chez l'hématozoïte *P. falciparum*. La résistance à la chloroquine a été favorisée et elle est apparue là où cette molécule a été employée ; que ce soit en chimioprophylaxie et/ou en automédication large, consécutivement à la facilité qu'avaient les populations à se procurer cet antipaludique (Druilhe et al., 1986 ; Wernsdorfer, 1994). Une fois introduite, la chimiorésistance de *P. falciparum* à la chloroquine se développe d'autant plus rapidement que cette molécule est

fréquemment utilisée, car en Afrique, c'est le moins cher et le plus diffusé des antipaludiques (Gaye et al., 1993 ; Sokhna et al. 1997).

L'émergence des souches chloroquino-résistantes montre une hausse de la morbidité paludéenne et cette augmentation a fait apparaître un changement de comportement vis à vis de l'automédication de prévention par les populations et un changement du traitement thérapeutique des accès palustres dans les structures de Santé en zones rurales (Diallo et al., 1983 ; Débat-Zoguère et al., 2000). On préconise donc depuis les années 1980 (Baudon et al., 1983 ; Baudon et al., 1984) de substituer à la chimioprophylaxie de masse (surtout par la chloroquine) une nouvelle stratégie qui est la chimiothérapie systématique des accès fébriles, laquelle doit fonctionner comme une promotion du traitement présomptif rapide des cas cliniques supposés palustres

Cette attitude thérapeutique présente comme avantage efficace de traiter précocement toute fièvre, réalisant ainsi une sorte de prophylaxie des complications cliniques et neurologiques du paludisme. Ce changement de stratégie vise à exercer une pression sélective médicamenteuse plus faible que celle créée par la chimioprophylaxie de masse (Baudon et al., 1983 ; Anonyme, 1994a). Cependant avec cette nouvelle attitude thérapeutique, il a fallu redéfinir les groupes à risques chez qui il reste nécessaire de maintenir une chimioprophylaxie quotidienne ou hebdomadaire et les sujets à risque sont prioritairement les femmes enceintes (Bohoussou et al., 1989 ; Bricaire et al., 1991).

- Chloroquinisation et prémunition maternotransmise

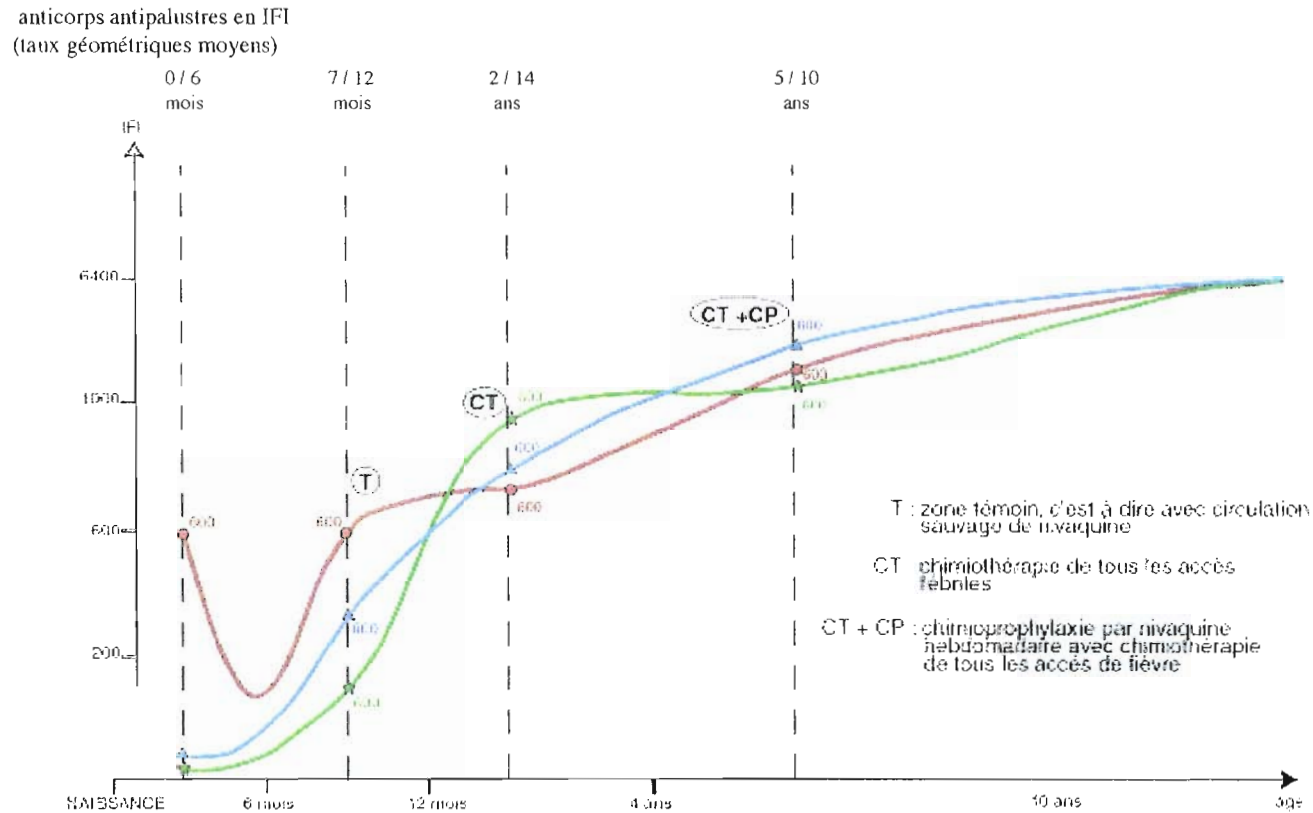
La dynamique d'acquisition des anticorps antipalustres peut être perturbé par les antipaludiques qui peuvent modifier la dynamique d'acquisition de l'immunité de prémunition (Brandicourt et al., 1987 ; Diallo et al., 1983 ; Ibeziako et al., 1980b ; Mac Dermott et al., 1988 ; Oulai et al., 1996). Nos enquêtes en zone rurale Brazzaville (région de Kinkala) l'ont aussi montré, dans l'acquisition de l'immunité de protection antipalustre, on observe des différences entre les sujets sans chimiothérapie ni prophylaxie, avec les sujets avec chimiothérapie et prophylaxie ou non (Molez et al., 1982c : voir Figure 7.).

Par ailleurs, comme on sait que les nouveau-nés prématurés (pesant de moins de 1.500 g à la naissance) présentent un taux d'anticorps maternotransmis plus bas que les enfants nés à terme (Ballou et al., 1986) ; l'interprétation des taux d'immunoglobulines doit donc tenir compte du terme de la grossesse.

Figure 7.

Influence de la chloroquinisation sur l'acquisition de l'immunité antipalustre

(région de Kinkala, zone rurale des environs de Brazzaville)



(T) : zone témoin (circulation ordinaire de Nivaquine®)

(CT) : zone avec chimiothérapie des accès fébriles par la chloroquine

(CT + CP) : zone avec chimio prophylaxie par la Nivaquine® (100mg hebdomadaire) associé à la chimiothérapie de tous les accès fébriles

Molez (J-F.), Brandicourt (O.), Peelman (P.), Duboz (P.), Moussoki (J.), Carnevale (P.) et Druilhe (P.) - Immunologie appliquée au paludisme : Dynamique de l'acquisition de la prémunition antipalustre en zone rurale autour de Brazzaville et effets de la chloroquinisation. *Bull. O.C.E.A.C.* (N° Spécial XIVème Conf. Techn. de l'O.C.E.A.C. ; ISSN 0255 5352), 1982 ; Yaoundé, Cameroun ; 54-63.

- Chloroquinisation et déficit pondéral

Différentes études concernant chimioprophylaxie chez les parturientes (surtout primipares) ont été réalisées en zone d'endémie palustre d'Afrique noire (Morley et al., 1964 ; Nahlen et al., 1989 ; Mutabingwa et al., 1993a ; Mutabingwa et al., 1993c ; Garner et al., 1994 ; Menendez et al., 1994). Les résultats de ces enquêtes montrent une diminution de la prématurité et des petits poids de naissance (< 2.500 g) chez les primipares recevant une chimioprophylaxie (Cot et al., 1992 ; Mutabingwa et al., 1993b ; Nyirjesy et al., 1993 ; Menendez et al., 1994 ; Steketee et al., 1996). Pour Greenwood et al. (1992), la diminution des petits poids de naissance permettrait d'espérer une réduction de la mortalité infantile de 18 % chez les nouveau-nés de primipares et de 4 % chez les nouveau-nés de multipares.

- Chloroquinorésistance et mortalité infantile

Chez le jeune enfant, le risque de mortalité par paludisme est maximum pendant les deux premières années de sa vie (Bloland et al., 1996), cependant, toutes les classes d'âge sont exposées aux souches chloroquino-résistantes, mais le fait que les cas de résistance sont dépistés principalement chez de très jeunes enfants, laisse prévoir chez ce groupe d'âge (à faible prémunition palustre), une augmentation de la morbidité palustre infantile et surtout fait craindre une augmentation de la mortalité infantile liée au paludisme. C'est ainsi que les travaux de recherche menés dans trois régions du Sénégal (Niakhar, Mlomp et Bandafassi) a montré les conséquences de la résistance à la chloroquine sur la mortalité palustre (Trape et al., 1998).

Toutes les études antérieures concernant la mortalité palustre en zone d'endémie en Afrique étaient de courte durée et aucune ne comportait de données avant, pendant et après l'émergence de la résistance à la chloroquine. L'existence de ces « observatoires de population » au Sénégal (en particulier celui de Niakhar) a permis de mesurer l'impact de la résistance à la chloroquine sur la mortalité infantile, domaine qui avait été mal exploré. Ainsi, le suivi permanent depuis 1984 de l'évolution des taux et causes de décès dans la région de Niakhar a permis de mettre en évidence un doublement récent de la mortalité palustre infantile associé à l'émergence puis à l'augmentation de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine.

- Chloroquinorésistance et la question d'un gamétocytocide

Une étude sur la sensibilité *in vivo* de *P. falciparum* à la chloroquine montre que lorsqu'il existe un mélange de souches sensibles et de souches résistantes R.I et R.II dans une population humaine, l'administration rapide du traitement par la chloroquine (qui accélère la gamétocytemie sanguine) amène le vecteur anophélien (*An. gambiae*) à être infecté et à transmettre de préférence les souches chimiorésistantes, en particulier celles de type R.II (Molez et al., 1998 ; Robert et al., 1996). Cette observation nous renvoie au constat effectué partout en zone de chimiorésistance d'Afrique noire, en effet, peu de temps après l'apparition de souches chloroquinorésistantes, dans une région donnée, il est classique de voir se répandre la résistance de type R.II et observer celle-ci devenir rapidement dominante.

Sur le plan épidémiologique, cette observation importante peut faire rediscuter du traitement et du contrôle des souches de *P. falciparum* chimiorésistantes par un traitement shizonticide seul. L'emploi d'un sporonticide doit-il donc être envisagé dans le cas d'une gamétocytemie circulante pour éviter tout risque de transmission chez le vecteur et diffusion « préférentielle » des souches R.II ? Cependant, même s'il existe une nécessité d'adapter une stratégie contre cette dynamique épidémiologique de la chloroquinorésistance, le gamétocytocide envisagé ne serait à utiliser qu'en association avec un shizonticide. Une nouvelle stratégie de contrôle des souches résistantes de *P. falciparum* peut-elle donc être envisagée à propos de cet aspect de la gamétocytogénèse des souches circulantes en zone de chimiorésistance ; ou bien ne vaut-il pas mieux changer le traitement curatif de première intention le plus tôt possible pour repousser le plus tard possible ce problème.

VII.b - STRATEGIES POUR LA PARTURIENTE

- Parturientes et antipaludiques

A l'heure actuelle, même si de nouvelles stratégies et de nouveaux moyens de lutte sont préconisés, il n'existe actuellement pas de médication idéale permettant de protéger les groupes vulnérables que sont les femmes enceintes prioritairement surveillées par les programmes de PNLP. Chez la parturiente présentant un accès palustre dans le décours de sa grossesse (ou pendant l'accouchement), les seuls antipaludiques utilisables sont la chloroquine et la quinine, ces molécules passent très peu dans le lait maternel.

Seul le traitement prophylactique antipalustre (en chloroquinisation hebdomadaire) semble être vraiment protecteur pour la parturiente (Brabin, 1983 ; Agboton et al., 1988). Dans nos enquêtes, aucune des mères l'ayant suivi sérieusement n'a présenté de paludisme avec parasitémie palustre placentaire. Des épisodes hyperthermiques sont toujours retrouvés à l'interrogatoire des femmes qui viennent accoucher et on a remarqué que pendant leur grossesse 80 % des femmes ont subi un ou plusieurs accès palustres ayant nécessité une chimiothérapie (traitement par chloroquine *per os* le plus souvent).

Tableau 21.
Enquête par interrogatoire sur l'utilisation des antipaludiques
(chez les parturientes dans les maternités de Bobo Dioulasso)

Parasitémie : et mode de Ttt utilisé au cours de la grossesse	Fréquence des parturientes avec parasitémie circulante (examen F / GE)	Fréquence des des placentas parasités par <i>P. falciparum</i> (examen microscopique)
Ttt prophylactique (effectif : 11)	6 (54,5%)	0
Ttt curatif (effectif : 54)	41 (75,9 %)	6 (11 %)
aucun Ttt (effectif : 35)	19 (54,3 %)	5 (14,3 %)
TOTAL	66	11

Ttt = traitement antipaludéen (préventif ou curatif)

F / GE = examen parasitologique par frottis / goutte épaisse

Une chimioprophylaxie sera bien prise que si elle est administrée dans une structure de santé (consultation de PMI en général), de même, la chimiothérapie ne sera curative qu'administrée dans une structure de santé (dispensaire), si elle est ambulatoire, la parturiente arrêtera la prise de comprimés dès que la fièvre va disparaître ; tous les parasites ne sont pas éliminés et c'est alors que va se développer secondairement une parasitémie palustre placentaire (Tableau 21.).

- Infection placentaire et accès palustre

Chez la femme qui accouche avec un placenta parasité, on retrouve très souvent à l'interrogatoire au moins une prise d'antipaludiques à cause d'un accès fébrile survenu au décours de la grossesse. Dans nos enquêtes, on a observé que des parturientes avaient parfois eu recours à deux ou à trois traitements thérapeutiques anti palustres pour des accès fébriles survenant au décours de leur grossesse (Molez et al, 1982) :

Deux infections placentaires à *P. falciparum* ont été décelées à 15 mois d'intervalle chez une mère de 22 ans. Il s'agissait chez cette parturiente de sa première et deuxième gestation. A chacun de ses accouchements cette femme est restée apyrétique, et il n'existait pas de parasitémie dans le sang périphérique. Des injections I.M. de Quinimax® (6 ampoules de 400 mg) ont été effectués au 6ème mois pour la première grossesse, et au 4ème mois pour la deuxième grossesse. Ces traitements ont donc été efficaces pour combattre l'hématozoaire chez la parturiente, en supposant que les épisodes hyperthermiques étaient bien d'origine paludéenne. En effet une infection plasmodiale à ces stades de gestation auraient pu provoquer (sans Quinimax®) un accouchement prématuré pour la première grossesse, et un avortement pour la deuxième grossesse. D'autre part, pour la seconde grossesse, au 9ème mois un autre traitement de Quinimax® 400mg I.M. (avec 3 ampoules seulement) a été effectué pour traiter un accès hyperthermique peu de jours avant l'accouchement. Ainsi ce "demi-traitement", s'il a pu faire disparaître les signes cliniques de l'accès palustre (très souvent un traitement est arrêté pour cette raison), s'est donc montré inefficace pour éviter l'installation de la parasitémie dans les espaces intervillositaires.

Le traitement a donc fait disparaître les signes cliniques et la parasitémie circulante, mais on peut penser que l'infection placentaire dès qu'elle a atteint un certain seuil suffisamment important de densité parasitaire, elle va persister jusqu'à l'accouchement. cela est surtout important s'il s'agit d'une jeune primi ou seconde pare car elles sont particulièrement concernées par la cytoadhérence des hématies parasitées (cf. supra : IIIId.), ce sont elles qui doivent être ciblées en priorité (Fleming et al., 1986 ; Greenwood et al., 1994). D'autres parturientes vont accoucher d'un nouveau-né parfois sans problème de prématurité ou de déficit pondéral ; mais l'examen microscopique du placenta nous montrera les traces d'une parasitémie ancienne (avec réaction macrophagique, dépôts d'hémozoïne, etc...).

- Choix de la chimioprotection

En Afrique noire, la chimioprotection antipalustre chez la parturiente n'est pas encore une règle établie partout, elle est parfois seulement fortement conseillée, chez les femmes enceintes (Anonyme, 1994a ; Anonyme, 1994b)., Par ailleurs cette chimio protection aura un effet préventif sur l'anémie de la parturiente en zone d'impaludation (Fleming et al., 1986 ; Greenwood et al., 1994) et sur les petits poids de naissance (Oulai et al., 1996 ; Steketee et al., 1996b). C'est important, car la mortalité infantile des enfants ayant un faible poids de naissance est quatre fois plus élevé que chez les enfants nés avec un poids normal (Mac Cormick, 1985). Différentes molécules ont été évaluées pour un protocole de chimioprophylaxie hebdomadaire de la femme enceinte :

100mg. de chloroquine hebdomadaire, cet ancien protocole est tout a fait abandonné depuis 10 à 20 ans, surtout depuis l'arrivée des souches chloroquinorésistantes.

D'autre part, il est insuffisant pour « nettoyer » une parasitémie placentaire déjà installée à bas bruit (Djibo et al., 2000),

300mg de chloroquine hebdomadaire (Martin et al., 1982 ; Steketee et al., 1996a ; Steketee et al., 1996b.),

250mg de méfloquine hebdomadaire (Nosten et al., 1994 ; Steketee et al., 1996a ; Steketee et al., 1996b, Steketee et al., 1996c.),

Une chimioprophylaxie chez la femme enceinte pourra donner une fausse garantie de protection antipalustre (Brabin et al., 1990 ; Pietra et al., 1991), d'autre part, la parturiente va garder les comprimés pour traiter un éventuel accès fébrile chez ses enfants à la maison. La chimioprophylaxie en plus d'être employée en automédication large a été rendue responsable d'avoir exercé une forte pression médicamenteuse (surtout la chloroquine) qui a été facteur essentiel favorisant l'apparition de la chimiorésistance. Par ailleurs, l'utilisation de la chimioprophylaxie hebdomadaire s'est révélé néfaste pour l'immunité materno-transmise (Martin et al., 1982), mais elle l'est aussi pour l'immunité de protection antipalustre (cela recoupe nos observations en zone rurale à Brazzaville, cf. supra : Figure 7.). Ce défaut d'immuno-transmission atteindra particulièrement les nouveau-nés avant terme qui possèdent (d'après Ballou et al., 1986), un moindre passage d'anticorps materno-transmis du fait de leur prématurité. Un protocole avec une prise mensuelle est maintenant admis par tous, que ce soit pour ce problème d'immunité et pour des raisons pratiques (fort absentisme des parturientes pour des consultations hebdomadaires à cause de problèmes divers : familiaux, climatiques, moyens d'accès, etc...).

- Choix de la molécule

A l'heure actuelle le protocole le plus utilisé est le traitement palustre curatif itératif, il est mensuel et il peut être calqué sur les consultations mensuelles de PMI, d'autre part, le personnel de santé peut surveiller la prise *per os* des comprimés par les femmes enceintes. Différents molécules ont été évaluées pour un protocole de chimiothérapie curative hebdomadaire de la femme enceinte :

600mg de chloroquine mensuelle (300mg sur deux jours) (Martin et al., 1982 ; Steketee et al., 1996a ; Steketee et al., 1996b.),

750mg de méfloquine hebdomadaire (Steketee et al., 1996a ; Steketee et al., 1996b ; Steketee et al., 1996c.),

Ce protocole de traitement itératif n'empêchera pas l'apparition de brefs accès fébriles, ni la présence transitoire d'hématozoaires dans le sang circulant ; cependant, s'il est régulier, cette prophylaxie devrait pouvoir empêcher l'installation d'une parasitémie palustre placentaire. Par ailleurs, il respecte la stimulation antigénique et il assure une bonne materno-transmission des anticorps antipalustres.

3 cp de Fansidar® (comprimés à 500mg de sulfadoxine et 25mg de pyriméthamine) en prise mensuelle (Steketee et al., 1996a ; Steketee et al., 1996b ; Steketee et al., 1996c.). Cette association (sulfadoxine et pyriméthamine) est de plus en plus employée lorsqu'il existe des souches chloroquinorésistes (au Sénégal, le PNLP l'a choisie comme molécule de seconde intention), mais elle peut développer rapidement une résistance. Les produits que sont le Fansidar® et le Maloprim® n'étaient autrefois pas recommandés dans les grossesses (Bricaire et al., 1991 ; Débat- Zoguéréh et al., 2000), mais elle sont maintenant expérimentées un peu partout chez la parturiente en zone d'endémie palustre (Nosten et al., 1994 ; Steketee et al., 1996a ; Steketee et al., 1996c.).

Les problèmes de chimiorésistance de l'hématozoaire *P. falciparum*, font que de plus en plus d'intérêt est porté à l'artéméther qui reste encore une molécule très chère pour les populations et pour les PNLP. Les traitements à base d'artémisine sont maintenant préconisés (ACT : « artemisine-based-combination treatment » : OMS-Genève AFP du 25 avril 2002) et deux associations sont actuellement en cours d'évaluation, il s'agit de :

artéméther-amodiaquine en traitement curatif itératif pour la parturiente
et artéméther-lumefantrine (Coartem®) en traitement des accès fébriles.

- Structures de santé, PMI et choix d'un antipaludique

L'émergence des souches chloroquinorésistantes a fait apparaître un changement de comportement vis à vis de l'automédication de prévention, les populations ont abandonné la chimioprophylaxie à la chloroquine. Un changement de comportement est aussi apparu vis à vis du traitement thérapeutique de l'accès palustre au niveau des structures de santé primaire soumises au problème de la chimiorésistance, devant une chloroquinorésistance, le personnel de santé a surtout recours en seconde intention à la quinine (Quinimax®, Quinine®) et aussi à un degré moindre au Fansidar®.

Dans les Centres de PMI la distribution d'un antipaludique pour traitement curatif itératif des parturientes doit être totalement organisée et prise en charge à l'occasion des consultations mensuelles. Doivent être préconisés comme antipaludiques :

600mg de chloroquine mensuelle, même dans les régions où il existe une certaine chloroquinorésistance R.I ou R.II

3 cp Fansidar® en prise mensuelle, dans les régions où il existe des souches chloroquinorésistantes R.III

Ce protocole de chimioprotection doit être organisé avec la mise en place des Programmes Nationaux de Lutte contre le Paludisme (PNLP) dans les différents pays impaludés d'Afrique noire. Actuellement

VII.c - STRATEGIES POUR LE JEUNE ENFANT

- La question du paludisme du nouveau-né

Le problème de l'infection plasmodiale transitoire dans le sang du nouveau-né après passage transplacentaire de l'hématozoaire *P. falciparum* lors de l'accouchement ne doit pas être un problème thérapeutique. Cette « parasitémie d'accouchement » (cf. supra : IIIf.) dépistée sur un examen parasitologique de sang de cordon reste très souvent sans suite clinique, certainement du fait des anticorps antipalustres materno-transmis (cf. : supra : Tableau 13.). Comme l'accouchée ne vient en structure de santé que pour accoucher (et qu'elle n'y reste que trois jours), la seule prévention possible est une surveillance de dépistage pendant une semaine d'un éventuel accès fébrile du nouveau-né par sa mère. Pour avoir une bonne gestion du risque palustre, le moyen le plus sécurisé serait d'établir un suivi du nouveau-né lors d'une visite de contrôle au Centre de PMI (en consultation à J + 2 semaines après l'accouchement). En cas d'infection palustre congénitale (cf. supra : IIIf.), le traitement de la parasitémie sera effectué avec de la quinine (*per os* ou intraveineuse : Quinimax®, Quinine®) ou de la chloroquine (*per os*). On utilisera l'halofantrine uniquement en cas de souche de *P. falciparum* résistante.

- La chimiothérapie de l'enfant

Chez l'enfant qui va grandir, la dynamique d'acquisition des anticorps antipalustres a été bien visualisée dans différentes études menées en zone de transmission palustre intense d'Afrique centrale (Agbo et al., 1990 ; Brandicourt et al., 1987 ; Molez et al., 1982c). On sait que la chimioprophylaxie va perturber l'acquisition de l'immunité palustre de prémunition (cf. supra : Figure 7.). Le traitement antipalustre chez l'enfant doit adopter le protocole de traitement présomptif d'accès fébrile développé depuis le début des années 1980 (Baudon et al., 1983 ; Baudon et al., 1984b ; Breman et al., 1987), qui est le meilleur garant de

l'acquisition de l'immunité de prémunition chez le jeune. Cependant, il faut savoir que les mères réalisaient depuis fort longtemps ce traitement présomptif de l'accès fébrile chez leurs jeunes avant qu'il ne soit préconisée par les autorités sanitaires ((Kaseje et al, 1987 ; Débat-Zoguéréh et al., 2000). Pour cela, des comprimés de chloroquine étaient mis de cotés, soit suite à un traitement antipalustre personnel qui était interrompu dès la disparition de la fièvre, soit il s'agit de comprimés donnés en PMI pour une prophylaxie de la parturiente.palustre et qui sont réservés par celle femme pour les enfants de la maison.

VII.d - L'UTILISATION DES MOUSTIQUAIRES IMPREGNEES

- Les moustiquaires imprégnées comme moyen de lutte

Les mesures de prévention de l'infection et de la morbidité palustre comportent aussi des actions d'application sélective, dont la lutte contre le vecteur anophélien responsable de la transmission de *P. falciparum* à l'homme. Cette lutte chimique a été pendant longtemps réalisée par aspersion intradomiciliaire d'insecticides rémanents. Si cette méthode de lutte reste encore efficace, sa mise en œuvre se heurte à de nombreuses contraintes techniques et économiques.

Au cours des deux dernières décennies, d'importants efforts ont été fournis dans la recherche d'outils et de méthodes de lutte adaptés aux conditions épidémiologiques et acceptés par les communautés. L'utilisation des moustiquaires de lit est un moyen efficace de protection individuelle et en Afrique noire, leur emploi est très répandu dans certaines communautés même si elles ne sont pas toujours bien entretenues ou sont mal utilisées.

De nombreux essais ont été réalisés pour évaluer l'efficacité de l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide (deltaméthrine) dans la lutte antipaludique. Ces différents travaux montrent que l'usage généralisé de ces moustiquaires entraîne une réduction des populations d'anophèles vecteurs (même s'il s'agit de moustiquaires percées ou déchirées, par leur effet répulsif), une réduction de la transmission et une réduction de la morbidité et de la mortalité dues au paludisme à *P. falciparum* (Bradley et al., 1986 ; Snow et al., 1987 ; Snow et al., 1988 ; Linsay et al., 1989 ; Carnevale et al., 1991 ; Dolan et al., 1993 ; Pietra et al., 1991).

La suppression de la faune anophélienne résiduelle endophile est associée à une importante réduction de la densité agressive de l'espèce vectorielle *An. gambiae s.l.* Les femelles endophages peuvent soit mourir sous l'effet de l'insecticide si elles entrent en contact

avec les moustiquaires soit quitter les habitations si elles sont exophiles, le tissu imprégné ayant un effet répulsif. Cet effet sera d'autant plus important dans les régions où la transmission est intense et où les anophèles vecteurs du paludisme sont des anophèles entièrement endophiles (Gupta et al, 1996).

- Essai de stratégie de lutte pour les groupes à risque

Une expérience de lutte par les moustiquaires imprégnées a été conduite en zone rurale dans l'agglomération de Wassadou (Sénégal oriental) a montré que l'utilisation de masse des moustiquaires imprégnées affecte fortement la quantité de transmission du paludisme par la réduction de la densité agressive des vecteurs (Faye et al., 1998). Dans cette enquête, les moustiquaires imprégnées de perméthrine, ont été bien acceptées par les habitants, toutes les chambres où elles étaient correctement installées en permanence étaient exemptes de moustiques (faune culicidienne anophélienne ou non). Elles se sont montrées assez efficaces et elles ont entraîné une forte réduction de la densité des populations vectorielles et une réduction de la transmission du paludisme de 88 à 93 %. Cependant, cette réduction n'est pas suffisante pour supprimer le risque d'infection palustre pour les villageois, mais elle permet quand même de diminuer le nombre de piqûres infectantes par homme et par nuit (facteur h. en entomologie, cf. **1.ère Partie**) et de diminuer la morbidité palustre.

Ce moyen de lutte antipalustre est particulièrement adapté aux femmes enceintes et aux jeunes enfants (Snow et al., 1987 ; Snow et al., 1988 ; Dolan et al., 1993 ; Alonso et al., 1991), qui sont des sujets à risque et qui posent (comme nous l'avons démontré dans cette étude) des problèmes de chimiostratégie de chloroquinisation. Cette stratégie de protection antivectorielle par moustiquaires imprégnées est d'autant plus adaptée, qu'en Afrique noire le tout jeune nouveau-né dort souvent contre sa mère, car il est nourri au sein.

3^{ème} Partie

SYNTHESE

Malgré les progrès scientifiques qui ont permis de cerner la maladie paludéenne sur la base des connaissances physiopathologiques et cliniques, malgré les progrès constants réalisés dans différents domaines, notamment en immunologie, en histologie et en anatomo-pathologie, malgré aussi les découvertes de la pharmacopée qui enrichissent l'arsenal thérapeutique, des inconnues persistent sur l'infection palustre.

Les résultats de l'étude longitudinale de la dynamique de transmission palustre (qui fluctue en zone de savane arborée soudanienne, cf. **1.ère Partie**), amènent à formuler des commentaires particuliers concernant l'hématozoaire *P. falciparum* et l'interface entomo-parasitaire vecteur-homme. Ces observations ont leur importance pour comprendre la saisonnalité de l'infection palustre placentaire chez la parturiente, les risques gestationnels et la saisonnalité du déficit pondéral chez le nouveau né (cf. **2.ème Partie**).

Discussions sur la transmission palustre en zone soudanienne :

- **les fluctuations saisonnières**
- **la dynamique parasitaire**

Discussions sur la parasitémie chez la parturiente et le nouveau né :

- **l'infection placentaire saisonnière**
- **le risque saisonnier de déficit pondéral**
- **la chloroquino-stratégie des parturientes**

Dans ces pays d'Afrique ayant et des problèmes sanitaires sérieux majorés par une démographie angoissante, actuellement, *P. falciparum* devient chimiorésistants aux antipaludiques et que les anophèles vecteurs deviennent chimio résistants aux insecticides ; les stratégies de contrôle du paludisme doivent être bien définies en relation avec cette mise en place récente de PNLN dans tous les pays d'Afrique noire en zone d'impaludation.

Les travaux de recherche doivent d'avoir des objectifs à court terme et leurs résultats doivent permettre à ces différents PNLN d'élaborer la meilleure conduite à tenir en matière de stratégie antipalustre selon la dynamique de transmission dans chaque région.


Eléments de stratégie pour les PNLN

- **l'apposition placentaire comme outil d'enquête**
- **le traitement curatifs des parturientes en PMI**

Discussions sur : la transmission palustre en zone soudanienne

- Les fluctuations saisonnières de la transmission

Dans l'analyse des données sur l'étude longitudinale de la transmission palustre à dans la zone rurale de Bobo-Dioulasso (Programme « ELIPS » : cf. **1.ère Partie**), nous abordons quelques aspects fondamentaux de la dynamique de la transmission du paludisme, en fonction des données entomologiques (agressivité anophélienne et parasitémie sporozoïtaire du vecteur anophélien) et des données parasitologiques (présence de gamétocytes dans la circulation périphérique de l'hôte humain).

A partir des résultats de cette étude longitudinale, intégrant la dynamique du passage de l'hématozoaire *P. falciparum* chez l'homme (réservoir) et chez l'anophèle (vecteur), nous avons pu aborder les deux interfaces de la transmission palustre. D'après ces observations de terrain, il apparaît bien que le moteur de l'infection semble être la parasitémie circulante de l'hôte réservoir humain et non pas l'anophèle vecteur porteur de sporozoïtes, c'est elle qui présente un petit pic de densité en fin de saison sèche, avant l'arrivée du pic anophélien de densité agressive du début des pluies (Figure ).

- La dynamique parasitaire

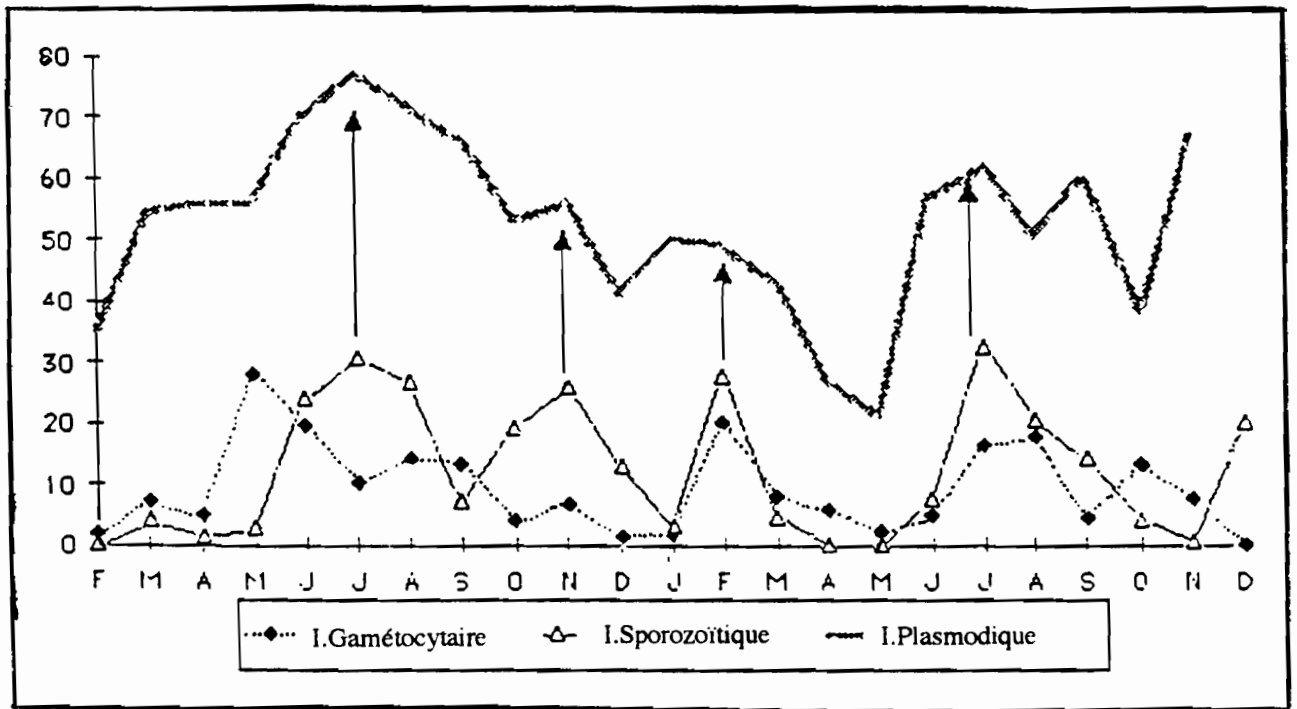
La dynamique parasitaire est bien articulée, les fluctuations saisonnières montrent bien qu'il y a deux directions dans la transmission, d'une part le passage de l'hématozoaire de l'hôte parasité vers l'anophèle et d'autre part celui du vecteur vers l'homme (Figure 8.). Nous avons constaté qu'il existait une accélération de la dynamique de transmission entre le début et la fin de la saison des pluies (cf. **1.ère Partie**), dont l'origine peut se situer à plusieurs niveaux (sans qu'il nous soit possible d'incriminer une des causes plus qu'une autre) :

*/ Considérant l'anophèle

Considérant l'âge de la population anophélienne du vecteur *An. gambiae sl.* mesuré par le pourcentage de femelles nullipares, en début de transmission on est en phase de rajeunissement et en fin de transmission en phase de vieillissement de la population agressive. Ce facteur pourrait influencer sur le délai espaçant le pic de densité agressive (ma) du pic de densité agressive infectante (h) , la dynamique de vieillissement de la population

Graphes d'après les données du Tableau 1. (page 23)
 (étude longitudinale entomologique et parasitaire à Soumouso, de février 1982 à décembre 1983)

Figure 8.



IG = indice gamétocytaire (en %)
 (cumul des espèces plasmodiales)

IP = indice plasmodique (en %)
 (cumul des espèces plasmodiales)

IS = indice sporozoïtique : pourcentage d'anophèles femelles infectées par des sporozoïtes
 (indice obtenu en microscopie par dissection des glandes salivaires)

Etude des interfaces anophèle-homme et homme-anophèle à Soumouso

Programme ELIPS « Etude Longitudinale Intégrée du Paludisme à la station de Soumouso »

**DYNAMIQUE DE LA TRANSMISSION PALUSTRE
 EN ZONE DE SAVANE ARBOREE D'AFRIQUE DE L'OUEST**

vectrice permet de rapprocher ce dernier en fin de transmission. D'autre part, en début de saison de transmission l'espèce anophélienne *An. gambiae sl.* (vecteur majeur) est seule impliquée dans la transmission palustre et par la suite l'espèce *An. funestus* (vecteur secondaire) apparaît et cette dernière va dominer en fin de saison des pluies.

*/ Considérant l'hôte humain

L'immunité protectrice antipalustre a été relancée pendant la saison des pluies, elle est différente et plus efficace qu'en fin de saison sèche du fait des « relances antigéniques » avec les piqûres infectantes. Une fluctuation de l'immunité antigamétoocyte peut elle être la cause du pic des formes sexuées plus précoce et plus important en fin de transmission ? On peut supposer que la fluctuation de l'immunité lorsqu'elle n'est pas encore relancée en début des pluies (redémarrage de la saison de transmission) permet un foisonnement des souches, qu'elle ne permettra plus en fin de saison de transmission. Le niveau de l'immunité de prémunition qui permet à l'hôte humain de supporter un seuil de densité parasitaire chez l'adulte en zone d'endémie palustre.

*/ Considérant l'hématozoaire

Il est probable que le profil des souches plasmodiales évoluant "à bas bruit" en saison sèche (l'homme ayant une immunité de prémunition qui a été réactivée en saison des pluies), n'est pas le même en saison des pluies, les souches plasmodiales doivent circuler avec un "turn over" important en pleine saison de transmission en relation avec la forte agressivité anophélienne. Nous avons observé des différences saisonnières d'aspect chez *P. falciparum* (sur les appositions placentaires, après avoir examiné 937 placentas infectés, observation non publiée) en insistant sur l'aspect microscopique des rosaces matures (cf supra : Photo 6.). En effet, cet examen des parasitémies placentaires montre qu'en début de saison des pluies (transmission palustre intense) les rosaces matures sont constituées de 16 mérozoïtes (l'infection placentaire a été acquise en saison sèche), alors qu'en fin de saison de transmission (fin des pluies, novembre-décembre) elles sont constituées de 32 mérozoïtes (la transmission palustre faible).

Cette observation est à rapprocher au fait que dans cet écosystème de savane arborée, en début de saison des pluies c'est *An. gambiae* qui est le vecteur majeur, alors qu'en fin de saison des pluies c'est *An. funestus* qui est le vecteur majeur (changement de biotope larvaire, cf. **1.ère Partie**), le changement de vecteur pourrait être un élément pour une sélection possible de « souches de saison des pluies » et de « souches de saison

sèche ». Les souches produisant un plus grand nombre de mérozoïtes seraient plus aptes à aborder une période de basse transmission et les souches avec une plus faible production de mérozoïtes auraient un « turn over » plus rapide adapté à la dynamique palustre de saison des pluies. Le développement actuel de la biologie moléculaire devrait permettre d'aborder la question du rôle de l'espèce anophélienne vectrice et de la sélection des souches selon les saisons et la dynamique de transmission.

Discussions sur : la parasitémie chez la parturiente et le nouveau né

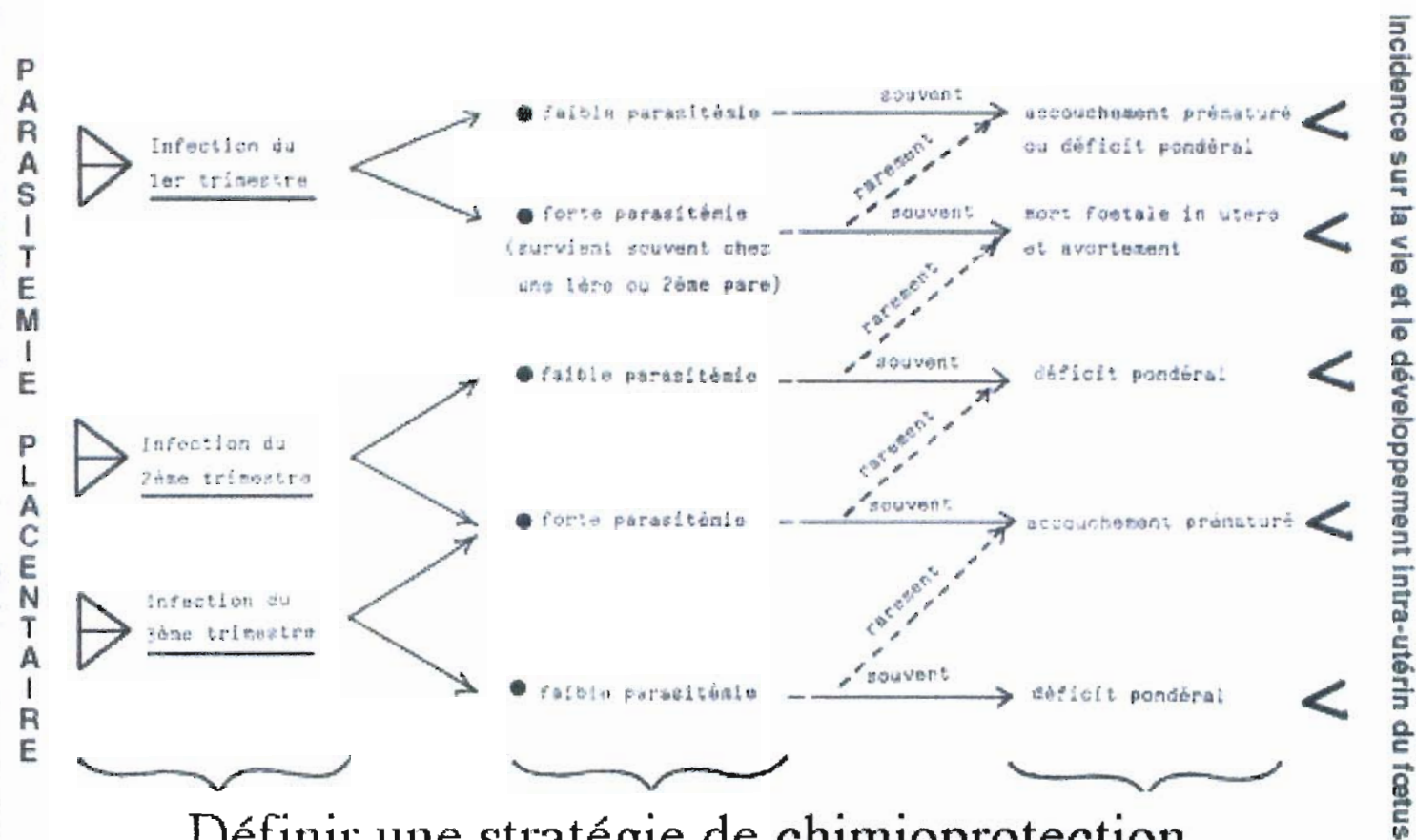
- L'infection placentaire saisonnière

La probabilité pour que la parturiente fasse une infection palustre est fonction du niveau de transmission palustre au moment de la grossesse et celui-ci nous l'avons vu présente des fluctuations saisonnières dans cette région d'Afrique de l'ouest. La parasitémie placentaire se développe dans les espaces intervillositaires, par la suite apparaît une réaction macrophagique qui sera de plus en plus importante. Dans un troisième temps l'infection disparaît, la parasitémie a été nettoyée par l'activité phagocytaire et on n'observe plus que des macrophages témoins chargés en hémozoïne. L'intensité de la réaction macrophagique est sous la dépendance du niveau d'immunité antipalustre de la parturiente et cet état immunitaire fluctue. Après avoir diminuée en saison sèche, l'immunité antipalustre est réactivée en début de saison des pluies suite aux stimulations antigéniques avec la reprise des piqûres infectantes.

Dans les lacs sanguins intervilloux, la prolifération parasitaire va augmenter à chaque cycle schizogonique et si la réaction macrophagique n'est pas assez active, il va se réaliser un cercle vicieux avec multiplication très intense des hématozoaires. Une densité parasitaire très importante dans les espaces intervillositaires en relation avec la cytoadhérence des hématies parasitées (particulièrement chez les jeunes pares) va provoquer un ralentissement de la circulation placentaire et une hypoxie fœtale avec des risques pour la gestation (cf. **2.ème Partie**), En début de grossesse il se produira un avortement après mort fœtale par hypoxie et à partir de la seconde moitié de la grossesse il y aura risque de prématurité par gestation raccourcie, ou ralentissement du développement fœtal avec déficit pondéral à la naissance (Figure 9.).

Au niveau des PNLP

Faire connaître les risques de la parasitémie placentaire



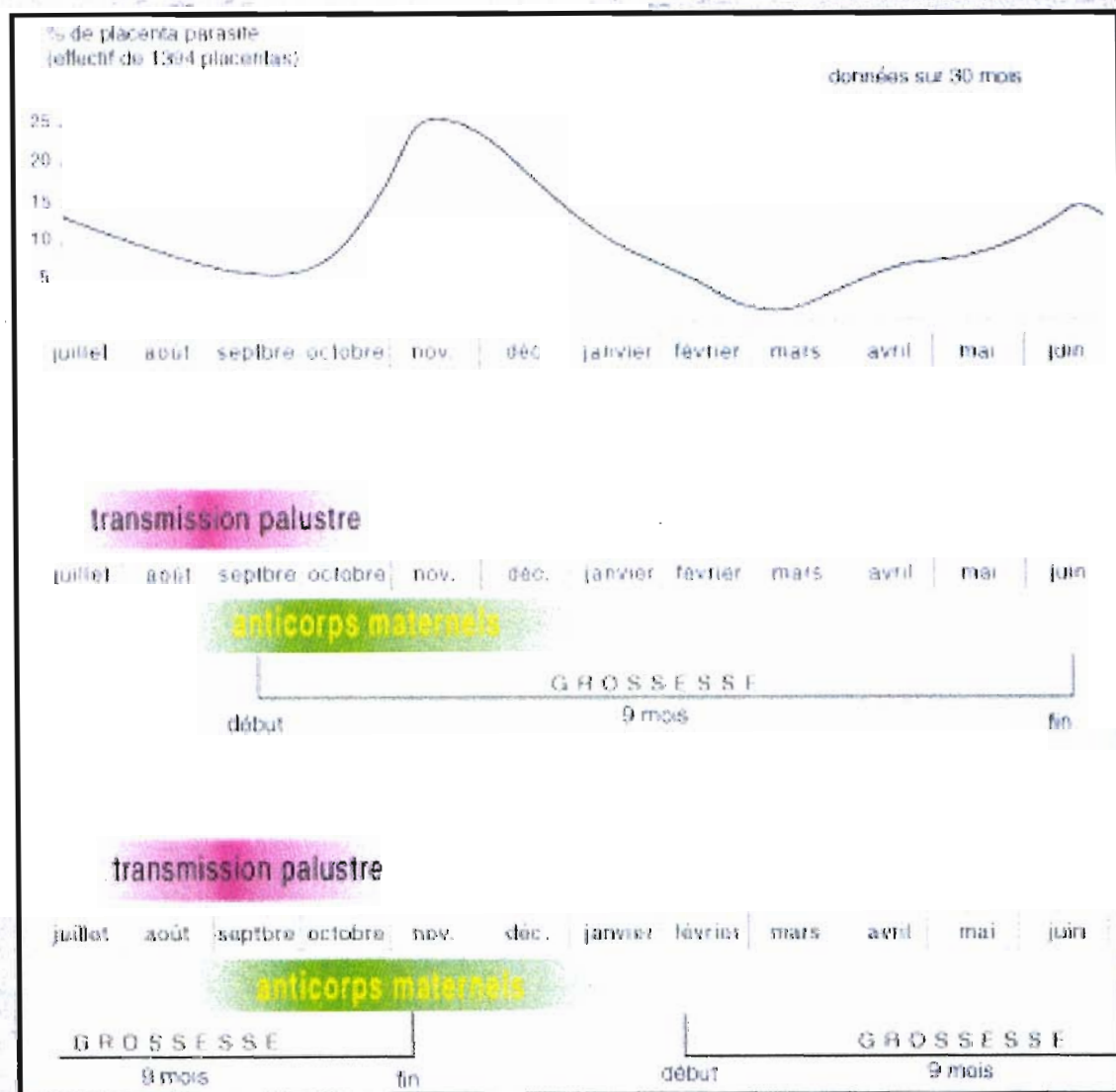
Définir une stratégie de chimioprotection adaptée au comportement des parturientes

les premiers trimestres de grossesses échappent à tout contrôle sanitaire et clinique surtout les parturientes primigestes

Figure 9.

ETUDE DYNAMIQUE

Saisonnalité de la transmission et des infections



calendrier

Suite aux variations saisonnières de la dynamique palustre, les taux d'anticorps chez la mère sont plus élevés en fin des pluies, la stimulation antigénique par les piqûres infectantes a été intense. Par contre, en fin de saison sèche, la très faible transmission a fait chuter les taux d'anticorps. A la reprise des pluies, la population anophélienne est jeune et elle n'est pas épidémiologiquement dangereuse (espérance de vie faible).

Selon la période de grossesse, le nouveau né va posséder un degré de protection antipalustre immuno-transmis plus ou moins important. En début de saison des pluies, les enfants naissent en de mères ayant des taux sériques diminués par la saison sèche et ils vont naître au début de période de reprise de la transmission palustre. Ces enfants seront déficients en anticorps antipalustres materno-transmis, les risques de mortalité infantile due au paludisme seront plus élevés.

Figure 10.

- Le risque saisonnier de déficit pondéral

En zone de fluctuations saisonnières l'intensité de la transmission aura des répercussions sur les densités parasitaires placentaires et on observe un effet saisonnier de l'infection sur le déficit pondéral (cf. **2.ème Partie**). Les petits poids de naissance se rencontrent chez les nouveau-nés issus de placentas parasités nés en saison sèche (avec maturité foetale en saison pluvieuse, période de forte transmission palustre), par contre les enfants qui naissent en saison pluies d'un placenta parasité (maturité foetale en saison sèche, période de transmission minimum), ne présentent pas de différence pondérale vis-à-vis du poids moyen du nouveau-né normal (Figure 10.). En zone soudanienne du Burkina Faso, il existe un rapport saisonnier de cause à effet entre la variation saisonnière de la transmission et le déficit pondéral du nouveau-né ; par contre en zone de transmission palustre intense et continue (Afrique équatoriale), l'infestation palustre placentaire, semble avoir moins de conséquences sur le développement fœtal.

- La chloroquino-stratégie des parturientes

L'échec de l'éradication du paludisme dans toutes les régions d'endémie palustre d'Afrique tropicale a conduit à l'arrêt progressif des opérations de lutte antivectorielle au début des années 1970, mais des campagnes visant à encourager la prise d'une chimioprophylaxie par la chloroquine pendant la saison des pluies se sont poursuivies jusque vers le début des années 1990 (en théorie). Actuellement on a substitué à la chimioprophylaxie de masse une nouvelle stratégie de chimiothérapie systématique des accès fébriles, c'est un traitement présomptif curatif rapide des accès palustres supposés. Cette stratégie a comme avantage efficace qui est de traiter précocément la fièvre, réalisant ainsi une sorte de prophylaxie du paludisme grave et elle devrait exercer une pression sélective médicamenteuse plus faible que celle créée par la chimioprophylaxie de masse.

Cependant concernant les femmes enceintes que les PNLN doivent absolument « cibler » (surtout pour les jeunes pères : Figure 11.), pour une meilleure chimioprotection, un traitement curatif mensuel imposé aux parturientes. Cependant, lorsque survient chez une parturiente (même si elle est supposée suivre une chimioprotection), un accès fébrile (souvent supposé palustre), un traitement curatif est quand même indispensable pour éviter une colonisation du sang maternel dans le placenta.

Figure 11.

Molez J-F., Zei M.P., Carnevale P., Traore S.G., Bosseno M-F., Guienhoun O., Sanou S. et Akinochi Y. –

**Nécessité en P.M.I. de « cibler » les jeunes pères (primipares ou secondes pères),
pour un meilleur contrôle du paludisme chez la femme enceinte.**

Communication : XXVème Conf. Techn. De l'OCCGE (15-19.04.85),
Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso, 1985.

Parité et risque palustre en zone d'endémie palustre
Enquête 1983-1984, OCCGE-Orstom / Centre Muraz
(1.281 placentas examinés)

<p>Classe des jeunes pères primigeste / seconde geste</p>	<p>Classe des multigestes (et multipares)</p>
<p>fort % d'infection placentaire primigeste / seconde geste 24,31% / 15,65 %</p> <p>densité parasitaire placentaire élevée</p> <p>réaction macrophagique faible et/ou tardive</p> <p>lésions placentaires importantes</p> <p>nouveau né prématuré et/ou déficit pondéral</p>	<p>faible % d'infection placentaire 8,89 %</p> <p>densité parasitaire placentaire modérée</p> <p>réaction macrophagique précoce et importante</p> <p>lésions placentaires minimes</p> <p>prématurité rare pas ou faible déficit pondéral</p>

**NECESSITE EN P.M.I. POUR UN
MEILLEUR CONTROLE DU PALUDISME CHEZ
LA FEMME ENCEINTE (10% d'infection placentaire)
DE
« CIBLER » EN PRIORITE LES JEUNES
PRIMIGESTES OU SECONDES GESTES**

Elements de stratégie pour les PNLP

- L'apposition placentaire comme outil d'enquête

Actuellement, avec les PNLP pourraient utiliser le protocole d'apposition placentaire pour réactualiser les données épidémiologiques dans les régions où les informations sur la transmission palustre sont très anciennes et ne correspondent plus à la réalité. Les données sur les parasitémies placentaires à *P. falciparum* est un indicateur permettant d'aborder de façon fiable et originale l'incidence de la transmission palustre dans une zone donnée. Cette méthode d'approche pour étudier l'incidence palustre permet dans la pratique d'atteindre toutes les catégories socio-économiques, en effet, avec le réseau des Postes de Santé qui s'est développé en Afrique, les parturientes accouchent de moins en moins à domicile pour une meilleure surveillance de la santé maternelle.

- Le traitement curatif des parturientes en PMI

En zone d'endémie à *P. falciparum*, une chimioprotection bien conduite chez les femmes enceintes reste le seul moyen pour éviter l'infection palustre placentaire et les risques liés à cette parasitémie : la prématurité et le déficit pondéral chez les nouveau-nés. Il faut éviter à la parturiente de tout accès fébrile qui peut être palustre, par un traitement curatif mensuel en ciblant particulièrement les jeunes pères : primigestes ou secondes gestes. En zone où la chimiorésistance est modérée (pas de souches R.III) le mieux adapté par son coût est une dose mensuelle de 300.mg de chloroquine en prise unique. En zone où circulent des souches chloroquinorésistantes on peut administrer aux parturientes une dose mensuelle de 3cp. de Fansidar®. (en prise unique) pour la protéger des infections palustres.

La prise de l'antipaludique en traitement curatif mensuel doit se faire dans une structure susceptible de surveiller la prise *per os* du traitement, pour une meilleure efficacité des PNLP, elle pourrait se faire au moment de la consultation mensuelle de PMI. Cependant, vont échapper à cette structure de santé les gestantes qui sont à leur premier trimestre de grossesse. En Afrique noire, les parturientes prennent souvent conscience de leur gestation qu'à partir du troisième mois de grossesse et cette catégorie de femmes enceintes va échapper à cette stratégie de PMI. Pour elles seule une meilleure information effectuée par les PNLP lors des campagnes de sensibilisation (voir Affiche page 115) pourraient leur faire prendre conscience des risques materno-fœtaux de l'infection palustre.

Une stratégie pour les PNLP

le traitement curatif itératif des parturientes

- une meilleure stratégie de prise des antipaludéens :
 - traitement curatif itératif des parturientes
 - pour une meilleure efficacité, permettant d'utiliser le plus longtemps possibles les molécules les moins coûteuses pour les PNLP

Un outil pour les PNLP

l'apposition placentaire

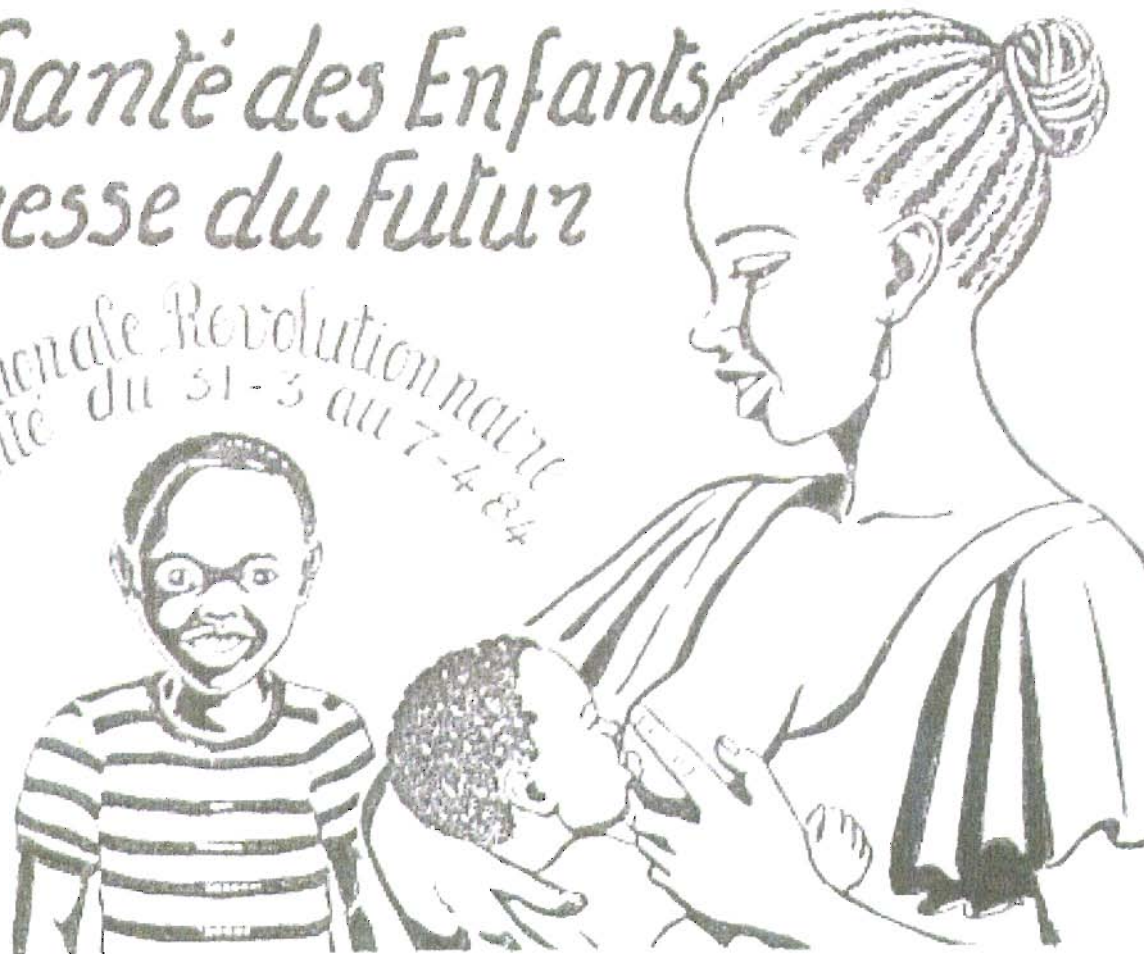
- les enquêtes entomologiques sont complexes, coûteuses et longues
- la technique est simple, elle peut être appliquée en zone rurale loin de tout laboratoire (ramassage des lames) et elle peut être pratiquée par du personnel peu qualifié
- cette technique est plus fiable que le classique indice plasmodique chez les écoliers (avec les parturientes on va atteindre toutes les couches sociales et le recrutement est moins dispersé que chez les écoliers)

La Santé des Enfants Richesse du Futur

Semaine Nationale Révolutionnaire
de la Santé du 31-3 au 7-4-84

Ministère de la Santé
et de l'Hygiène
Publique

1984



Problème non résolu : comment atteindre les primigestes dès leur premier trimestre de grossesse, c'est un problème d'information par les PNLP

BIBLIOGRAPHIE

- Abdalla (S.H.), Corrah (P.T.) and Higgs (D.R.). - Thalassemia in the Gambia. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989 ; 83 : 420.
- Adelike (A.D.), Liu (J.C.), Sulzer (A.J.) and Huisman (T.H.J.). - Frequency of the alpha-Thalassemia-2 gene among nigerian SS patients and its influence on malaria antibody titers. *Hemoglobin*. 1993 ; 17 (1) : 73-79.
- Agbo (K.), Gayibor (H.A.), Kessie (K.) et Gniamey (K.). - Anticorps et densité parasitaire chez les enfants de 0-3 ans sous chimioprophylaxie antipalustre à Korbongou (Nord Togo). *Publ. Med. Afr.*, 1990 ; 29 : 196-198.
- Agbo-Houenou (Y.), Kouamé (K.J.), Dorego (A.), Kangah (D.F.), Konan-Timité (M.), Touré (M.), Diarra (M.), Prince (A.J.), Amon-Tanoh (F.) Assale (G.) et Assi Adou (J.). - Etude des anticorps antipalustres dans une population d'enfants de 0 à 6 mois à Abidjan. *Publ. Med. Afr.*, 1990 ; 29 : 196-198.
- Agboton (Y.), Zohoun (T.H.), Bileoma (S.) et Capo-Chichi (M.). - Evaluation de la chimioprophylaxie antipaludique dans une population cible de 200 gestantes venues accoucher à la Maternité de Cotonou-1 en Rep. Pop. du Benin. *Publ. Med. Afr.*, 1988 ; 22 (92) : 19-23.
- Akpadza (K.), Baeta (S.) et Kotor (K.T.). - La mortalité au Centre Hospitalier Régional de Sokodé, Togo. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1993 ; 86 : 195-196.
- Allison (A.C.). - Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *British Med. Journ.*, Feb.6, 1954 ; (i) : 290-294.
- Allison (A.C.). - Polymorphism and natural selection in human populations. Cold Spring Harbor Symposium. *Quant. Biol.*, 1964 ; 24 : 137-149.
- Alonso (P.L.), Lindsay (S.W.), Armstrong (J.R.M.), Conteh (M.), Hill (A.G.), David (P.H.), Fegan (G.), De Francisco (A.), Hall (A.J.), Shenton (F.C.), Cham (K.) and Greenwood (B.M.). - The effect of insecticide-treated bed nets on mortality of gambian children. *Lancet*, 1991 ; 337 : 1499-1502.
- Alsat (E.) et Evain-Brion (D.). - Le placenta humain : neuf mois d'une intense activité encore méconnue. *M. T. Pédiatrie*, 1998 ; 1 (6) : 509-516.
- Anonyme - *Terminology of Malaria and Malaria Eradication*. Monogr. OMS/WHO, (Geneva, Switzerland), 1963.
- Anonyme. - Advances in malaria chemotherapy. Report of a WHO Scientific Group Geneva *WHO Technical Report, ser. N°711*, 1994a ; 72p.
- Anonyme. - Stratégie d'utilisation des antipaludiques : traitement du paludisme non compliqué et prise en charge du paludisme pendant la grossesse. *WHO/MAL (94.1070)*, 1994b ; 72p.

- Anthonioz (Ph.), Correa (P.), Lauroy (J) et Bah (M.D.). - Association paludisme et grossesse : données fournies par l'examen de 607 placentas. *Dakar Médical*, 1979 ; 24 (1) : 103-111.
- Archibald (H.M.). - The influence of malarial infection of the placenta on the incidence of prematurity. *Bull. WHO.*, 1956 ; 15 : 842-845.
- Archibald (H.M.). - Influence of maternal malaria on newborn infants. *Brit. Med. J.*, 1958 ; 2 : 1512-1514.
- Ba (F.). - Le paludisme en zone mésoendémique : Etude longitudinale entomoparasitologique à Ndiop, Sénégal. *Mém. D.E.A. (N° 072)*, Fac. Sciences & Tehn., Université C. A. Diop (Dakar, Sénégal), 1995.
- Baelen (H. van), Vandepitte (J.), and Eeckels (R.). - Observations on sickle-cell anaemia and haemoglobin Bart's in Congolese neonates. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 1969 ; 49 : 157-164.
- Ballou (M.), Cates (K.L.) and Rowe (J.C.). - Development of the immune system in very low birth weight (less than 1.500 g) premature infants: concentrations of plasma immunoglobulins and patterns of infections. *Pediatr. Res.*, 1986 ; 20 : 899-904.
- Baudon (D.), Roux (J.), Carnevale (P.) et Guigemde (T.R.). - Chimiothérapie systématique des accès fébriles : une stratégie de relais dans le lutte contre le paludisme en milieu rural. *Med. Trop.*, 1983 ; 43 (4) : 341-345.
- Baudon (D.), Gazin (P.), Rea (D.), Galaup (B.), Boudin (C.), Molez (J-F.), Sanou (J-M.), Roux (J.), Carnevale (P.), Ouedraogo (L.), Ouedraogo (I.) et Kagone (M.) - Epidémiologie clinique : morbidité palustre, mortalité palustre. In : *Etudes Médicales*. 1984 ; 3 (Part II.) : 135-144.
- Baudon D., Roux J., Carnevale P., Molez J-F. et Gazin P. - Stratégie de contrôle des paludismes. In : *Etudes Médicales*. 1984b ; 3 (Part II.) : 167-176.
- Benasseni (R.), Gazin (P.) et Carnevale (P.). - Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso. 3. Etude épidémiologique de la morbidité palustre. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd. et Parasitol.*, 1987 ; 25 (3-4) : 165-170.
- Bergstrom (S.), Fernandes (A.), Schwalbach (J.), Perez (O.) and Miyar (R.). - Materno-foetal transmission of pregnancy malaria: an immunoparasitological study on 202 parturients in Maputo. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 1993 ; 35 : 103-107.
- Blackwell (J.M.) and Alexander (J.). - The macrophage and parasitic protozoa. *Trans. of Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1983 ; 77 (5) : 636-645.
- Bloland (P.), Sultsker (L.), Steketee (R.W.), Wirima (J.J.), Heymann (D.L.) and Breman (J.G.). - Rates and risk factors for mortality during the first two years of life in rural Malawi. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996 ; 55 (Suppl. 1) : 82-86.
- Bohoussou (K.M.), Nouhou (K.), Penali (L.K.), Koné (M.), Anoma (M.), Djanhan (Y.) et Diby (A.). - paludisme et grossesse. *Publ. Med. Afr.*, 1989 ; 23 (100) : 22-28.
- Boudin (C.), Lyannaz (J.) et Bosseno (M-F.). - Epidemiology of *P.falciparum* in a rice field and a savanna area in Burkina Faso : seasonal fluctuations of gametocytemia and malaria infectivity. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1991 ; 85 : 377-385.

- Boukari (B.S.), Napo-Koura (G.), Kambatibe (N.), Kpodzro (K.), Rabineau (D.) et Vovor (M.). – Paludisme du couple mère-enfant. Le paludisme congénital : considérations cliniques, parasitologiques et histologiques. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1991 ; 84 : 458-464.
- Boutaleb (Y.), Lahlou (N.), Oudghiri (A.) et Mesbahi (M.). – Le poids de naissance dans un pays africain. *J. Gyn. Obst.*, 1982 ; 11 : 68-72.
- Brabin (B.J.). – Analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bull. WHO*, 1983 ; 61 : 1005-1016.
- Brabin (B.J.). – An assessment of low birthweight risk in primiparae as an indicator of malaria control in pregnancy. *Int. J. Epidemiol.*, 1991 ; 20 (1) : 276-282.
- Brabin (B.J.) and Perrin (L.). – Sickel cell trait and *P. falciparum* parasitemia in pregnancy in Western Province, Kenya. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1985 ; 79 : 733.
- Brabin (B.J.) Ginny (M.), Alpers (M.), Brabin (L.), Eggelte (T.) and Van Der Kaay (H.J.). – Failure of chloroquine prophylaxis for *falciparum* malaria in pregnant women in Papua New Guinea. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1990 ; 84 (1) : 1-9.
- Bradley (A.K.), Grennwood (B.M.), Grennwood (A.M.), Marsh K.), Byass (P.), Tulloch (S.) and Hayes (R.). - Bed-nets (mosquito-nets) and morbidity from malaria. *Lancet*, 1986 ; 332 : 204-207.
- Brandicourt (O.), Carnevale (P.), Baudon (D.), Molez (J-F.), Gazin (P.), Danis (M.), Duflo (B.) et Gentilini (M.) - Influence de la chimioprophylaxie ou de la chimiothérapie par la chloroquine sur l'acquisition des anticorps fluorescents antipalustres en zone de savane. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1987 ; 67 (1) : 17-22.
- Bray (R.S.) and Anderson (M.J.). – *Falciparum* malaria and pregnancy. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1979 ; 73 : 427-431.
- Breman (J.G.), Gayibor (A.), Roberts (J.M.), Sexton (J.D.), Agbo (K.), Miller (K.D.), Miller (K.D.), Karsa (T.) and Murphy (K.). – Single dose chloroquine therapy for *P. falciparum* in children in Togo, West Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1987 ; 36 : 469-473.
- Bricaire (F.), Salmon (D.), Danis (M.) et Gentilini (M.). – Antipaludiques et grossesse. *Bull. Soc. Path.Ex.*, 1991 ; 84 : 721-738.
- Bruce-Chwatt (L.J.). - Malaria in african infants and children of southern Nigeria. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1952 ; 46 : 173-200.
- Bruce-Chwatt (L.J.). – Les rapports immunitaires entre la mère et l'enfant dans le paludisme endémique africain. *Arch. Fr. Pédiatr.*, 1985 ; 42 : 911-916.
- Brunengo (J-F.), Moirier (F.), Tankari (G.), Touré (I.A.) and Cénac (A.). – Iron deficiency, pregnancy and breast-feeding in the Republic of Niger. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1988 ; 82 : 649-650.
- Bulmer (J.N.), Rasheed (F.N.), Francis (N.), Morrison (L.) and Greenwood (B.M.). – Palcental malaria. I.- Pathological classification. *Histopathology*, 1993a ; 22 : 211-218.

- Bulmer (J.N.), Rasheed (F.N.), Francis (N.), Morrison (L.) and Greenwood (B.M.). – Palcental malaria. II.- A semi-quantitative investigation of the pathological features. *Histopathology*, 1993b ; 22 : 219-225.
- Cabannes (R.) et Sangare (A.). - L'Africain Noir et son hémoglobine. *Gazette Méd.*, 1984 ; 91 (22) : 32-39.
- Cabau (N.), Levy (F.M.), Zivy (D.), barbier (J.) and Roux (F.). – Evolution of titre of serum Ig.G in newborn. *Switz. Biol. of the Neonate*. 1974 ; 25 (3-4) : 194-207.
- Cannon (D.S.H.). - Malaria and prematurity in the western region of Nigeria. *Brit. Med. J.*, 1958 ; IV : 877-878.
- Carme (B.), Guillo du Bodan (H.), Molez (J-F.) et Trape (J-F.) - Etude rétrospective sur la mortalité de l'enfant de moins de 5 ans dans une zone rurale de la région de Brazzaville (Rep. Pop. du Congo), I. Taux et causes de mortalité. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1983 ; 77 (1) : 104-114.
- Carnevale (P.), Bosseno (M-F.), Lallemand (M.), Feingold (J.), Zoulani (A.), Molinier (M.) et Mouchet (J.). - Le paludisme a *P. falciparum*, et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo, I Relation entre la parasitémie et le trait drépanocytaire à Djoumouna (région de Brazzaville). *Ann. de Génétique*, 1981 ; 24 (2) : 100-104.
- Carnevale (P.), Bosseno (M-F.), Lallemand (M.), Molez (J-F.), Morault (B.), Mouchet (J.), Trape (J-F.), Michel (R.), Vaisse (D.) et Al. - Le paludisme en milieu rural au Congo. *Travaux et Documents de Géographie Tropicale*, CEGET-CNRS/ACCT ("DE L'ÉPIDÉMIOLOGIE A LA GÉOGRAPHIE HUMAINE"), Table ronde "TROPIQUE ET SANTÉ", Bordeaux, France (4-5-6 oct. 82), 109 -121, 1982.
- Carnevale (P.), Bosseno (M-F.), Pangui (E.), Molez (J-F.), Frezil (J.-L.) et Richard-Lenoble (D.) - Observations parasitologiques sur le paludisme congénital à l'Hôpital Militaire de Brazzaville, Rep. Pop. du Congo. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 1985 ; 23 (2) : 87-94.
- Carnevale (P.), Robert (V.), Snow (R.W.), Curtis (C.), Richard (A.), Boudin (C.), Pazart (L.H.), Halna (J-M.) et Mouchet (J.). – L'impact des moustiquaires imprégnées sur la prévalence et la morbidité liées au paludisme en Afrique sub-saharienne. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 1991 ; 71 (Suppl.1) : 127-150.
- Chizzolini (C.), Trottein (F.), Bernard (F.X.) and Kaufmann (M.H.). – Isotopic analysis, antigen specificity and inhibitory function of maternally transmitted *P. falciparum* specific antibodies in Gabonese newborns. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1991 ; 45 : 57-64.
- Cornille-Brogger (R.), Fleming (A.F.), Kagan (I.), Matsushima (T.) and Molineaux (L.). – Abnormal haemoglobins in the Sudan savanna of Nigeria. II.- Immunological response to malaria in normals and subjects with sickle cell trait. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1979 ; 73 : 173-183.
- Correa (P.), Bah (M.D.), Diallo (S.), Fall (N.), Sow (A.), Ndiaye (L.P.), Anthonioz (Ph.), Afoutou (J-M.) et Roffi (J.). – Paludisme et grossesse. *J. Gyn. Obst. Biol. Repr.*, 1982 ; 11 : 2-42.

Cot (M.), Roisin (A.), Barro (D.), Yada (A.), Carnevale (P.) and Breart (G.). – Effect on birth weight of chloroquine chemoprophylaxis during pregnancy : results of a randomized trial. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1992 ; 46 : 21-27.

Couvreur (J.) et Desmont (G.). – Pathologie parasitaire du fœtus. *Rev. Prat.*, 1977 ; XXVII (11) : 647-662.

Covell (G.). – Congenital malaria. *Trop. Dis. Bull.*, 1950 ; 47 : 1147-1166.

Coz (J.), Escudié (A.) et Sales (P.). - Rapport sur les moustiques et le paludisme dans Bobo-Dioulasso. *Rapport Sections Entomo. Méd. Parasitol., Centre Muraz O.C.C.G.E.*, Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso, 1962.

Coz (J.) et Picq (J-J.). - Etude au laboratoire de la réceptivité à *Laverania falcipara* d'*A. gambiae* B. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1972 ; 65 : 668-675.

Creasey (A.), Fenton (B.), Walker (A.), Thaithong (S.), Oliveira (S.), Mutambu (S.) and Walliker (D). - Genetic diversity of *Plasmodium falciparum* shows geographical variation. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1990 ; 42 (5) : 403-413.

Débat-Zoguéréh (D.) et Delmont (J.). – Les médicaments antipaludiques et leurs modes d'emploi en milieu africain. *Cah. Sté.*, 2000 ; 10 : 425-433.

Detinova (T.S.). - *Méthodes à appliquer pour classer par groupe d'âge les diptères présentant une importance médicale.* OMS Ed. (Genève, Suisse), 1963 ; (sér. Monogr. N°47) : 2-220.

Devoucoux (R.), Hurpin (C.), Baudon (D.), Molez (J-F.), Roux (J.), Guilloud-Bataille (M.), Carnevale (P.) and Feingold (J.) - Population genetics of abnormal haemoglobins in Burkina Faso, West Africa. *Ann. Human Biology* , 1991 ; 18 (4) : 295-302.

Diallo (S.), Diouf (F.), Bah (I.B.), N'Dir (O.) et Victorius (A.). – Conséquences cliniques de la chimioprévention à la chloroquine et de son interruption dans une zone d'hyperendémie palustre. *Dakar Med.*, 1983 ; 28 (1) : 43-65

Djibo (A.) et Cénac (A.). – Paludisme congénital. Etudes parasitologique et serologique à Niamey (Niger). *Cah. Sté.*, 2000 ; 10 : 183-187.

Dolan (G.), Ter Kuile (F.O.), Jacoutot (V.), White (N.J.), Luxemburger (C.), Malankirii (L.), Chongsuphajaisiddhi (T.) and Nosten (F.). – Bed nets for the prevention of malaria and anaemia in pregnancy. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1993 ; 87 : 620-626.

Dorris (A.) and Mac Ghee (B.). - Avian tolerance to serums antigens. *Exp. Parasito.*, 1975 : 37 : 105-107.

Druilhe (P.), Monjour (J.) et Gentilini (M.). - Passage transplacentaire des antigènes solubles plasmodiaux. *La Nouvelle Presse Médicale.* 1976 ; 5 : 1430-1431.

Druilhe (P.), Brasseur (P.), Brandicourt (O.), Kouamouo (J.), Richard-Lenoble D.), Diouf (F.), Gay (F.), Moyou (R.S.), Danis (M.), Kombila (M.Y.), Diallo (P.) and Gentilini (M.). – *P. falciparum* drug resistance in West Africa. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 1986 ; 66 (2) : 297-300.

Eaton (J.W.). - The soluble malarial antigen in the serum of monkeys infected with *Plasmodium knowlesi*. *J. Exp. Med.*, 1939 ; 69 : 517-532.

- Eling (W.M.C.), Jerusalem (C.R.) and Heinen-Borries (U.). – Role of macrophages in the pathogenesis of endomyocardial fibrosis in murine malaria. *Trans. of Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1983 ; 78 : 43-48.
- Esan (G.J.F.). – The thalassemia syndromes in Nigeria. *British Med. Haematol.*, 1970 ; 19 : 47-56.
- Faye (O.), Konaté (L.), Fontenille (D.), Gaye (O.), Sy (N.), Diop (A.), Diagne (M.) et Molez (J-F.) - Impact de l'utilisation des moustiquaires pré-imprégnées de perméthrine sur la transmission du paludisme dans un village hyperendémique du Sénégal. *Méd. Trop.*, 1998 ; 58 (4) : 355-360.
- Fisher (P.R.). – Congenital malaria : an african survey. *Clin. Pediatr.*, 1997 ; 36 : 411-413.
- Fleming (A.F.), Storey (J.), Molineaux (L.), Isoko (E.A.) and Attai (E.D.E.). - Abnormal haemoglobin in the Sudan savanna of Nigeria. I.-Prevalence of haemoglobins and relationship between sickle cell trait malaria and survival. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1979 ; 73 : 161-172.
- Fleming (A.F.), Akintunde (A.), Attai (E.D.), Bradley-Moore (A.M.), Kirkwood (B.R.) and Gilles (H.M.). – Malaria and haemoglobin genotype in young northern Nigerian children. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1985 ; 79 (1) : 1-5.
- Fleming (A.F.), Ghatoura (G.B.S.), Harrison (K.A.), Briggs (N.D.) and Dunn (D.T.). – The prevention of anaemia in pregnancy in primigravide in the guinea savana of Nigeria. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1986 ; 80 : 211-233.
- Folayan (G.J.). - Haemoglobin Bart's in newborn Nigerians. *Brit. J. Haematol.*, 1972 ; 22 : 73.
- Galbraith (R.M.), Faulk (W.P.), Galbraith (G.M.P.) and Holbrook (T.W.). - The human materno-foetal relationship in malaria : I. Identification of pigment and parasites in the placenta. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1980 ; 74 : 52-60.
- Garraud (O.), Diouf (A.), Nguer (C.M.), Dieye (A.), Longacre (S.), Kaslowù (D.C.), Holders (A.), Tall (A.), Molez (J-F.), Perraut (R.) and Mercereau-Puijalon (O.) - Different *Plasmodium falciparum* recombinant MSP119 Antigens Differ in Their Capacities to Stimulate In Vitro Peripheral Blood T Lymphocytes in Individuals from Various Endemic Areas. *Scand. J. Immunol.*, 1999 ; 49 (4) : 431-440.
- Garner (P.) and Brabin (B.). – A review of randomized controlled trials of routine antimalaria drug prophylaxis during pregnancy in endemic malarious areas. *Bull. WHO*, 1994 ; 72 (1) : 89-99.
- Gazin (P.), Robert (V.) et Carnevale (P.). - Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso. 2. Les indices paludologiques. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd. et Parasitol.*, 1987 ; 25 (1) : 27-31.
- Gazin (P.), Robert (V.), Cot (M.) et Carnevale (P.). - *Plasmodium falciparum* incidence and patency in a high seasonal transmission area of Burkina Faso. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1988 ; 82 : 50-55.

Gazin (P.), Compaoré (M-P.), Hutin (Y.) et Molez (J-F.) - Infection palustre du placenta par les *Plasmodium* en zone d'endémie. Les facteurs de risque. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1994 ; 87 : 97-100.

Gaye (O.), Babou (I.), Faye (O.), Fall (A.), Molez (J-F.), Bah (I.B.), et Diallo (S.) - Morbidité palustre et efficacité thérapeutique des antipaludéens. Etude menée dans la région de Dakar. *Med. Trop.*, 1993 ; 53 (4) : 479-485.

Gilles (H.M.), Lawson (J.B.), Sibelas (M.), Voller (A.) and Allan (N.). - Malaria, anaemia and pregnancy. *An. Trop. Med. Parasit.*, 1969 ; 63 (2) : 245-263.

Gillies (M.T.). - The recognition of age-groups populations of *Anopheles gambiae* by the pre-gravid rate and the sporozoite rate. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1954 ; 48 : 58-74.

Gini (E.K.), Kaluila (M.), Mukuna (K.), Manzombi (M.) et Kabakele (K.). - Hémoglobine A2 comme facteur modérateur de la gravité de la drépanocytose. *Méd. Afr. Noire*, 1989 ; 36 (7) : 596-598.

Greenwood (A.M.), Armstrong (J.R.M.), Byass (P.), Snow (R.W.) and Greenwood (B.M.). - Malaria chemoprophylaxis, birth weight and child survival. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992 ; 86 : 483-485.

Greenwood (A.M.), Menendez (C.), Alonso (P.L.), Jaffar (S.), Langerock (P.), Lulat (S.), Todd (J.), M'Bodge (B.), Francis (N.) and Greenwood (B.M.). - Can malaria chemoprophylaxis be restricted to first pregnancies ? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1994 ; 88 : 681-682.

Gupta (S.) and Snow (R.W.). - How bednets influence the transmissibility of *P. falciparum*. *Parasitology Today*, 1996 ; 12 (3) : 89-90.

Gusdon (J-P.). - Fetal and maternal immunoglobulin levels during pregnancy. *Amer. J. Obst. Gyn.*, 1969 ; 103 : 895-900.

Harrison (K.A.), Lister (K.A.), Rossiter (C.E.) and Chong (G.). - Perinatal mortality. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.*, 1973 ; 80 : 798-804.

Harrison (K.A.) and Ibeziako (P.A.). - Maternal anaemia and fetal birthweight. *Br. J. Obs. Gynecol.*, 1985 ; (Suppl.5) : 798-804.

Heymann (D.L.), Richard (W.), Steketee (R.W.), Wirima (J.J.), Deborah (A.), Farland (Mc), Khoromana (C.O.), Campbell (C.). - Antenatal chloroquine chemoprophylaxis in Malawi : chloroquine resistance, compliance, protective efficacy and cost. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1990 ; 84 : 496-498.

Ibeziako (P.A.), Okerengwo (A.A.) and Williams (A.I.O.). - Malarial immunity in pregnant Nigerian women and their new-born. *Intern. J. Gyn. Obst.*, 1980a ; 18 (2) : 147-149.

Ibeziako (P.A.) and Williams (A.I.O.). - The effect of malarial chemoprophylaxis on immunoglobulin level of pregnant Nigerian women and the newborn. *Brit. J. Obst. Gynecol.*, 1980b ; 87 (11) : 976-982.

Higgs (D.R.), Aldridge (B.E.), Lamb (J.), *et al.* - The interaction of alpha-thalassemia and homozygous sickle-cell disease. *New. England J. Med.*, 1982 ; 306 (24) : 1441-1446.

Jeffery (G.M.) and Eyles (D.E.). - Infectivity to mosquitoes of *P. falciparum* as related to gametocyte density and duration of infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1955 ; 4 : 781-789.

Jeliffe (E.F.M.). - Low birthweight and malaria infection of the placenta. *Bull. WHO.*, 1968 ; 33 : 68-78.

Jilly (P.) - Anaemia in parturient women, with special reference to malarial infection of the placenta. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1969 ; 63 : 109-116.

Kaseje (D.C.O.), Sempebwa (E.K.N.) and Spencer (H.C.). - Malaria chemoprophylaxis to pregnant women provided by community health workers in Saradidi, Kenya. I.- reasons for non-acceptance. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1987 ; 81 (S1) : 77-82.

Kohler (P.F.) and Farr (R.S.). - Elevation of cord over maternal IgG immuno-globulin evidence for an active placental IgG transport. *Nature*, 1966 ; 210 : 20-23.

Kramer (M.S.). - Intra-uterine growth gestationel duration determinants. *Pediatrics*. 1987 ; 80 : 502-511.

Labié (D.) - Tropisme placentaire du *Plasmodium* et acide hyaluronique. *Med. Sces*, 2000 ; 10 (16) : 1131-1132.

Lallemant (M.), Galacteros (F.), Lallemant-Lecoeur (S.), Feingold (J.), Carnevale (P.), Boukila (V.), Mouchet (J.) and Rosa (J.). - Hemoglobin abnormalities, an evaluation on newborn infants and their mothers in a maternity unit close to Brazzaville (Rep. Pop. Congo). *Hum. Genet.*, 1986 ; 74 : 54-58.

Lapp (D.F.) and Whitney (B.J.). - Malaria infection in thalassemic mice. *Intern. Congress of Parasitol.* ICOPA-V, 1982 (7-14 aug.) ; Toronto, Canada.

Larkin (G.L.) and Thuma (P.E.). - Congenital malaria in a hyperendemic malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1991 ; 45 (5) : 587-592.

Lefait (J-F.), Seixas (J.), Tavora Tavira (L.), Alves (F.) et Alves (A.). - Infection palustre à la maternité de Bissau (Guinée-Bissau). Parasitémie maternelle, placentaire et néonatale en début de saison des pluies. *Med. Afr. Noire*, 1999 ; 46 (2) : 93-98.

Linsay (S.W.), Snow (R.W.), Broomfield (G.L.), Semega (J.M.), Wirtz (R.A.) and Greenwood (B.M.). - Impact of permethrin-treated bed nets on malaria transmission by the *Anopheles gambiae* complex in the Gambia. *Med. Vet. Ent.*, 1989 ; 3 : 263-271.

Logie (D.E.), Mac Gregor (I.A.), Rowe (D.S.) and Billewicz (W.Z.). - Plasma immunoglobulin concentration in mothers and newborn children with special reference to placental malaria. *Bull. WHO.*, 1973 ; 49 : 547-554.

Loke (Y.W.). - Transmission of parasites across the placenta. In : Baker (J.R.) et Muller (R.) Ed. ; *Advances in Parasitology*. London Academic Press, 1982 ; 21 : 155-228.

Luzatto (L.), Nwachuku-Jarett (E.S.) and Reddy (S.). - Increased sickling of parasited erythrocytes as a mechanism of resistance against malaria in the sickle-cell trait. *Lancet*, 1970 ; (i) : 319-321.

Mac Cormick (M.C.). - The contribution of low birth weight to infant mortality. *N. Engl. J. Med.*, 1985 ; 312 : 82-90.

- Mac Donald (G.). - *The epidemiology and control of malaria*. Oxford Univ. Press. (London), 1957.
- Mac Dermott (J.M.), Heymann (D.L.), Wirima (J.J.), Macheso (A.P.), Wahl (R.D.), Steketee (R.W.) and Campbell (C.C.). - Efficacy of chemoprophylaxis in preventing *Plasmodium falciparum* parasitemia and placental infection in pregnant woman in Malawi. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1988 ; 82 : 520-523.
- Mac Gregor (I.A.) Wilson (R.J.M.) and Billewicz (W.Z.). - Soluble antigens in the blood of African patients with *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet*. 1968 ; 7 : 881-884.
- Mac Gregor (I.A.). - Mecanism of acquired immunity and epidemiological pattern of antibody reponses in Malaria in man. *Bull. WHO*, 1974 ; 50 : 259-266.
- Mac Gregor (I.A.) and Avery (J.G.). - Malaria transmission and foetal growth. *Brit. Med. J.*, 1974 ; 3 : 433-436.
- Mac Gregor (I.A.). - Epidemiology, malaria and pregnancy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1984 ; 33 : 517-525.
- Mac Gregor (I.A.), Wilson (M.E.) and Billiwick (W.Z.). - Malaria infection of placentae in Gambia, West Africa : its incidence and relationship to stillbirth, birthweight and placental weight. *Trans. of Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1983 ; 77 : 232-244.
- Mac Laren (D.S.) and Ward (P.G.). - Malaria infection of the placenta and foetal nutrition. *E. Afr. J.*, 1962 ; 39 : 182-189.
- Malassiné (A.), Tarrade (A.), Guidourdenche (J.), Rochette-Egly (C.) et Evain-Brion (D.). - Le placenta. *Med. Sces.*, 2000 ; 3 (16) : 329-335.
- Martin (G.E.) et Nkwate (C.C.). - Administration de la dose unique mensuelle de 600mg de chloroquine base dans le contrôle du paludisme chez les femmes enceintes. *Bull. OCEAC*, 1982 ; 53 : 41-47.
- Maubert (B.), Guilbert (L-J.) and Deloron (Ph.). - Cytoadherence of *P. falciparum* to intercellular adhesion molecule-1 and chondroitine-4-sulfate expressed by the syncytiotrophoblaste in the human placenta. *Infection & Immunity*, 1997 ; 65 : 1251-1257.
- Maubert (B.), Fievet (N.), Tami (G.), Cot (M.), Boudin (C.) and Deloron (Ph.). - Development of antibodies against chondroitin sulfate A-adherent *P. falciparum* in pregnant women. *Infection & Immunity*, 1999 ; 67 : 5367-5371.
- Menendez (C.). -Malaria and pregnancy : a priority area of malaria research and control. *Parasitol. Today*, 1995 ; 11 (5) : 178-183.
- Menendez (C.), Todd (J.), Alonso (P.L.), Lulat (S.), M'Bodge (B.), Francis (N.) and Greenwood (B.M.). - Malaria chemoprophylaxis. infection of the placenta and birth weight in Gambian primigravide. *J. Trop. Med. Hyg.*, 1994 ; 97 : 244-248.
- Meuris (S.), Bosango-Piko (B.), Eerens (P.), Vanbellinghen (A.M.), Dramaix (M.) and Hennart (P.). - Gestional malaria : assessment of its consequences on foetal growth. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1993 ; 48 (5) : 603-609.
- Michel (R.), Carnevale (P.), Bosseno (M.-F.), Molez (J-F.), Brandicourt (O.), Zoulani (A.) et Michel (Y.) - Le paludisme à *Plasmodium falciparum*, et le gène de la drépanocytose en

République Populaire du Congo. III. Prévalence du paludisme et du trait drépanocytaire en milieu scolaire dans la région Brazzavilloise. *Med. Trop.*, 1981 ; 41 (4) : 403-411.

Milko-Sartellet (I.). – Aspects cliniques, histologiques du paludisme chez la femme enceinte et le nouveau-né au cours d'une étude prospective à dakar au Sénégal. *Thèse Med., Univ. Reims, Fac. Med.*, 1998 ; 104pp.

Molineaux (L.) and Gramiccia (G.). - *The Garki project. Research on the epidemiology and control of malaria in the Sudan Savanna of West-Africa. WHO Ed. (Geneva).* 1980 ; 311 pp.

Molez (J-F.), Brandicourt (O.), Peelman (P.), Duboz (P.), Moussoki (J.), Carnevale (P.) et Druilhe (P.) - Immunologie appliquée au paludisme : Dynamique de l'acquisition de la prémunition antipalustre en zone rurale autour de Brazzaville et effets de la chloroquinisation. *Bull. OCEAC (N° Spécial XIVème Conf. Techn. de l'OCEAC., Yaoundé, Cameroun)*, 1982 ; 54-63.

Molez (J-F.), Peelman (Ph.), Carnevale (P.), Bosseno (M-F.), Morault (B.), Vaisse (D.) et Nzingoula (S.) – Etude clinique et sérologique de 19 accès perniciose chez l'enfant Congolais (17 homozygotes AA, et 2 hétérozygotes AS). *Bull. OCEAC (N° Spécial XIVème Conf. Techn. de l'OCEAC., Yaoundé, Cameroun)*, 1982b ; 106-114.

Molez (J-F.), Brandicourt (O.), Peelman (P.), Duboz (P.), Moussoki (J.), Carnevale (P.) et Druilhe (P.) - Immunologie appliquée au paludisme : Dynamique de l'acquisition de la prémunition antipalustre en zone rurale autour de Brazzaville et effets de la chloroquinisation. *Bull. OCEAC (N° Spécial XIVème Conf. Techn. de l'OCEAC, Yaoundé, Cameroun)*, 1982c ; 54-63.

Molez (J.F.), Carnevale (P.), Traore (S.G.), Sanou (J.M.), Bazie (A.J.) et Diagne (M.) - Données sur l'association paludisme et grossesse fournies par l'examen de 215 placentas dans deux maternités de Bobo- Dioulasso. *XXIIIème Conf. Techn. de l'OCCGE (04-83)*, Ouagadougou, Burkina-Faso, 1983.

Molez (J-F., Carnevale (P.) et Bosseno (M-F.) - Variations enzymatiques chez *P. falciparum* à Brazzaville (Rep. Pop. Congo). *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 1984 ; 22 (1) : 35-42.

Molez (J-F.), Bosseno (M-F.), Carnevale (P.), Traoré (S.G.) et Guienhoun (O.) - Infection placentaire itérative à *Plasmodium falciparum* au cours de deux grossesses successives. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1989 ; 82 (3) : 373-380.

Molez (J-F.), Bosseno (M-F.), Traoré (S.G.), Carnevale (P.) et Gazin (P.) - Infection placentaire et paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Cahiers Santé*, 1992 ; 2 : 176-179.

Molez (J-F.) – Les relations entre le gène de la drépanocytose et l'infection palustre en Afrique intertropicale : Rep. Pop. Du Congo, Burkina Faso et Rep. Du Niger. *Bull. liais. Doc. OCEAC (ISSN 0255 5352)*, 1993 ; 26 (2) : 5-15,

Molez (J-F.), Bosseno (M-F.) et Traoré (S.G.) - Poids de naissance, infection palustre placentaire et déficit pondéral saisonnier à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Malaria*, 1995 ; 3 : 4-8.

Molez (J-F.), Guiguemde (R.T.) et Diop (A.). - Protocole général pour l'étude de la transmission du paludisme. *Malaria*, 1996 ; 4 : 45-54.

Molez (J-F.) et Gaye (O.) - Un gamétocytocide associé au traitement antipaludique shizonticide sera-t-il bientôt nécessaire en zone de chimiorésistance ? *Médecine Trop.*, 1997 ; 57 (4) : 97.

Molez (J-F.), Robert (V.) et Trape (J-F.) - Souches chloroquinorésistantes de *Plasmodium falciparum*, infectivité du vecteur anophélien et utilisation des antipaludéens. *Bull. Soc. Med. Afr. Noire* (N° Spécial Quarantenaire : S.G.ISSN 0049-1101), 1998 ; 7-9.

Molez (J-F.) et Bosseno (M-F.) - Avaliação da transmissão da malária pela aplicação de lâminas na placenta em maternidades. *XXXVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (24-28.02.02)*, Iguazu, Brasil, 2002.

Morley (D.), Woodland (M.) and Cuthbertson (W.F.J.). - Controlled trial of pyrimatamine in pregnant women in an African village. *Brit. Med. J.*, 1964 ; 1 : 667-668.

Morgan (H.G.). - Placental malaria and low birthweight neonates in urban Sierra Leone. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1994 ; 88 (6) : 575-580.

Mutabingwa (T.K.), Malle (L.N.), De Geus (A.) and Oosting (J.). - malaria chemosuppression in pregnancy. I.- The effect of chemosuppressive drugs on maternal parasitemia. *Trop. Geogr. Med.*, 1993a ; 45 (1) : 6-14.

Mutabingwa (T.K.), Malle (L.N.), De Geus (A.) and Oosting (J.). - malaria chemosuppression in pregnancy. II.- Its effect on maternal haemoglobin levels, placental malaria and birthweight. *Trop. Geogr. Med.*, 1993b ; 45 (2) : 49-55.

Mutabingwa (T.K.), Eling (W.M.C.), Kitinya (J.N.), Malle (L.N.) and De Geus (A.). - malaria chemosuppression in pregnancy. III.- Placenta malarial changes among three different prophylaxis groups. *Trop. Geogr. Med.*, 1993c ; 45 (6) : 274-279.

Nagel (R.L.), Fabry (M.E.), Pagnier (R.J.), Zohoun (I.), Wajcman (H.), Baudin (V.) and Labie (D.). - Hematologically and genetically distinct forms of sickle cell anemia in Africa (The Senegal Type and the Benin Type). *The New England J. of Med.*, 1985 ; 312 (April 4) : 880-884.

Nahlen (B.L.) Akintude (A.), Alakija (T.), Nguyen-Dinh (P.), Ogunbode (O.), Edungbola (L.D.), Adetoro (O.) and Breman (J.G.). - Lack of efficacy of Pyrimethamine prophylaxis in pregnant Nigerian women. *Lancet*, 1989 ; (oct.7) : 930-834.

Nosten (F.), Kuile (F.-t.), Maelankiri (L.), Chongsuphajaisiddhi (T.), Nopdonrattakoon (L.), Tangkitchot (S.), Boudreau (E.), Bunnag (D.) and White (N.J.). - Mefloquine prophylaxis prevents malaria during pregnancy : a double-blind, placebo-controlled study. *The Journal of Infect. Diseases*, 1994 ; 169 : 595-603.

Nyirjesy (P.), Kavasaya (T.), Axelrod (P.) and Fisher (P.R.). - Malaria during pregnancy : neonatal morbidity and mortality and the efficacy of chloroquine chemoprophylaxis. *Clin. Infect. Dis.*, 1993 ; 16 : 127-132.

Okafor (G.O.), Uche (G.O.), Emejuniwe (S.O.) and Marshall (W.C.). - Immunoglobulin levels in Nigerian cord blood sera. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1979 ; 73 (1) : 27-30.

- Olivier (C.), Badoual (J.) et De Paillerets (F.). – Interprétation d'une hypotrophie du nourrisson. *Pédiatrie-Rev. Prat.*, 1978 ; 28 (23) 1729-1747.
- Omanga (U.), Kageruka (P.) et Tshishimbi (M.). – Immunité antipaludique materno-transmise et son évolution chez l'enfant. *Med. Trop.*, 1982 ; 42 : 19-25.
- Oulai (S.M.), Tanon (B.M.J.), Plo (K.J.), Niangue-Beugre (M.), Orega (M.), Soro-Koné (M.) et Andoh (J.). – Le paludisme de l'enfant en milieu tropical : réflexions sur la chimiothérapie des accès fébriles. *Malaria*, 1996 ; 4 : 14-18.
- Pagnier (R.J.), Mears (G.J.), Dunda-Belkodja (O.), Schaeffer-Rego (K.), Beldjord (C.), Nagel (R.L.) et Labie (D.). - Evidence for the multicentric origin of the sickle cell haemoglobin gene in Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984a ; 81 : 1771-1773.
- Pagnier (R.J.), Dunda-Belkodja (O.), Zohoun (I.), Teyssier (J.), Baya (H.), Jaeger (G.), Nagel (R.L.) et Labie (D.). - Alpha thalassemia among sickle cell anemia patients in various African populations. *Hum. Genet.*, 1984b ; 68 : 318-319.
- Paupé (J.) et Meyer (B.). – les immunoglobulines chez le fœtus et le nouveau-né. I-Evolution générale : les immunoglobulines d'origine maternelle. *Path. Biol.*, 1969a ; 17 : 27-30.
- Paupé (J.) et Meyer (B.). – les immunoglobulines chez le fœtus et le nouveau-né. II-Les immunoglobulines synthétisées par l'enfant. *Path. Biol.*, 1969b ; 17 : 87-96.
- Parashar (A.), Aikat (B.K.), Sehgal (S.) and Naik (S.). – Cell mediated and humoral immunity in experimental *Plasmodium berghei* infection. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1977 ; 71 (6) : 474-480.
- Pasvol (G.). - The interaction between sickle haemoglobin and the malarial parasite *P. falciparum*. *Trans. of the Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 1980 ; 74, (6) : 701-705.
- Playfair (J.H.L.). – Immunity to malaria. *Brit. Med. Bull.*, 1982 ; 38 (2) 153-159.
- Pietra (Y.), Procacci (P.G.), Kumlien (S.), Lamizana (L.) et Rotigliano (G.) - Impact de l'utilisation des rideaux imprégnés de perméthrine sur le paludisme dans une zone rurale de haute transmission au Burkina Faso. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1991 ; 84 : 375-385.
- Rapert (A.B.). - Sickling in relation to morbidity from malaria and other diseases. *Brit. Med. J.*, 1956 ; (i) : 965-966.
- Rasheed (F.N.), Bulmer (J.N.), Dunn (D.T.), Menendez (C.), Jawla (M.F.B.), Jepson (A.), Jakobsen (Ph.) and Greenwood (B.M.). - Suppressed peripheral and placental blood lymphoproliferative responses in the first pregnancies : relevance to malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1993 ; 48 : 154-160.
- Redd (S.C.), Wirima (J.J.), Steketee (R.W.), Breman (J.G.) and Heymann (D.L.). – Transplacental transmission of *P. falciparum* in rural Malawi. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996 ; 55 : 57-60.
- Reinhart (M.C.). - Effects of parasitic infections in pregnant women. *Ciba Found Symp.* 1980 ; 77 : 149-170.
- Reinhart (M.C.), Ambroise-Thomas (P.), Carvallo-Sera (R.), Meylan (C.) and Gautier (R.). – Malaria at delivery in Abidjan. *Helv. Pediatr. Acta*, 1978 ; 33 (suppl. 41) : 65-84.

Renaud (R.) - Paludisme et grossesse. *Med. Afr. Noire*, 1980; 27 (10) : 791-794.

Roberts (J.), Khoromana (C.O.), Richard (W.), Mac Dermott (J.M.), Macheso (A.P.), Wahl (R.D.), and Campbell (C.C.).

Richard-Lenoble (D.), Kombila (M.), Poinot (J.), Deseny (M.) et Martz (M.). – Passage transplacentaire et dynamique du développement des anticorps antipalustres fluorescents selon l'âge. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1989 ; 40 : 732-737.

Riley (E.M.), Schneider (G.), Sambou (I.) and Greenwrod (B.M.). – Suppression of cell-mediated immune responses to malaria antigens in pregnant Gambian women. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1989 ; 40 : 161-168.

Robert (V.), Gazin (P.), Boudin (C.), Molez (J-F.), Ouedraogo (V.) et Carnevale (P.). - La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone rizicole des environs de Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso). *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1985 ; 65 (Suppl. 2) : 201-214.

Robert (V.), Gazin (P.), Ouedraogo (V.) et Carnevale (P.). - Le paludisme urbain à Bobo - Dioulasso. I. Etude épidémiologique de la transmission. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd. et Parasitol.*, 1986 ; 24 (2) : 121-128.

Robert (V.), Gazin (P.) et Carnevale (P.). - Malaria transmission in three sites surrounding the area of Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) : the savanna, a rice field, and the city. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, 1988 ; 12 (2) : 541-543.

Robert (V.), Petrarca (V.), Carnevale (P.), Ovazza (L.) et Coluzzi (M.). - Analyse cytogénétique du complexe *Anopheles gambiae* dans la région de Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso). *Ann. Parasito. hum. comp.*, 1989 ; 64 : 290-311.

Robert (V.), Molez (J-F.) and Trape (J-F.) - Gametocytes, chloroquine pressure and the relative advantages of resistant strains of falciparum malaria in West Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1996 ; 53 (3) : 350-351.

Roberts (S.B.), Paul (A.A.), Cole (T.J.) and Whitehead (R.G.). – Seasonal changes in activity, birth weight and lactational performance in rural Gambian women. *Trans. of Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1983 ; 76 (5) : 668-678.

Roffi (J.), Diallo (P.B.) et Bah (M.D.) – Mise en évidence d'IGM antimalariques dans le sang de cordon de nouveau-nés africains. *Med. Trop.*, 1977 ; 37 (3) : 269-272.

Sanderson (A.), Walliker (D.) and Molez (J-F.) - Enzyme typing of *Plasmodium falciparum* from African and some other world countries. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981 ; 75 (2) : 263-267.

Schewtz (J.). – Considerations sur le paludisme congénital. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1939 ; 32 : 42-50.

Steketee (R.W.), Wirima (J.J.), Slutsker (L.), Roberts (J.), Khoromana (C.O.), Heymann (D.L.) and Breman (J.). – Malaria parasite infection during pregnancy and at delivery in mother, placenta, and newborn : efficacy of chloroquine and mefloquine in rural Malawi. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1996a ; 55 (1) : 24-32.

Steketee (R.W.), Wirima (J.J.), Hightower (A.W.), Slutsker (L.), Heymann (D.L.) and Breman (J.). – The effect of malaria and malaria prevention in pregnancy on offspring

- birthweight, prematurity, and intrauterine growth retardation in rural Malawi. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1996b ; 55 : 33-41.
- Steketee (R.W.), Wirima (J.J.), Slutsker (L.), Khoromana (C.O.), Heymann (D.L.) and Breman (J.). – Malaria treatment and prevention in pregnancy : indications for use and adverse events associated with use of chloroquine or mefloquine. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1996c ; 55 (1) : 50-56.
- Snow (R.W.), Kathryn (M.), Rowan (X) and Greenwood (B.M.) - A trial of permethrin-treated bed nets in the prevention of malaria in gambian children. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1987 ; 81 : 563-567.
- Snow (R.W.), Lindsay (S.W.), Hayes (R.J.) and Greenwood (B.M.) - Permethrin-treated bed net (mosquito nets) prevent malaria in Gambian children. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1988 ; 82 : 838-842.
- Sombo-Mambo (F.), Seka (S.J.), Aagueh (I.G.), Meite (M.) et Cabannes (R.). – Cinétique des anticorps antipalustres d'origine maternelle chez le nouveau né. *Publi. Méd. Afr.*, 1989 ; 23 (100) : 29-31.
- Sokhna (C.S.), Molez (J-F.), Ndiaye (P.), Sane (B.) et Trape (J-F.) - Tests *in vivo* de chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine au Sénégal : évolution de la résistance et estimation de l'efficacité thérapeutique. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1997 ; 90 (2) : 83-89.
- Spitz (A.J.W.). – Malaria infection of the placenta and its influence on the incidence of prematurity in Eastern Nigeria. *Bull. WHO.* 1959 ; 28 : 242-244.
- Steketee (R.W.), Wirima (J.J.), Hightower (A.W.), Slutsker (L.), Haymann (D.L.) and Breman (J.G.). – The effect of malaria and malaria prevention in pregnancy of offspring birthweight, prematurity, and intra-uterine growth retardation in rural Malawi. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996 ; 55 (1) : 33-41.
- Streinberg (M.H.), Adams (J.G.) and Dreilling (B.J.). - Alpha Thalassaemia in adults with sickle cell trait. *Brit. J. Haematol.*, 1975 ; 30 : 31.
- Sulzer (A.), Moyroud (J.), Turner (A.), Bosseno (M-F.), Chisholm (E.), Ovazza (L.), Lissouba (P.) et Carnevale (P.). – Les anticorps materno-transmis et leur évolution chez le nourrisson en zone d'endémie palustre stable (Rép. Pop. Du Congo). *Cah. Orstom, sér. Ent. Méd et Parasitol.*, 1986 ; 24 (3) : 159-173.
- Sylla (A.), Lamah (O.O.), Camin (A.M.), Diallo (P.), Keita (N.), Barry (I.), Condé (N.M.), Diallo (M.), Guiguen (C.) et Sénécal (J.). – Impaludation du nourrisson dans une zone rurale de Guinée maritime (Guinée Conakry). I. Statuts immunitaire te parasitaire de la mère et du nouveau-né. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1998 ; 2 ; 287-290.
- Tanon (B.M.J.). – Etude des anticorps antiplasmodiaux maternotransmis et leur évolution chez l'enfant de 0 à 12 mois. Etude prospective à propos de 315 cas colligés à Abidjan. *Thèse Med. N° 1703, Fac. Med. Abidjan*, 1992 : 194p.
- Testa (J.), Awodabon (J.), Lagarde (N.), Olivier (T.) et Delmont (J.). – Indices plasmodiques et placentopathies palustres chez 229 parturientes centrafricaines. *Med. Afr. Noire*, 1989 ; 36 : 754-761.

- Trape (J.F.) et Zoulani (A.). - Malaria and urbanisation in Central Africa : Part III. Relationships between urbanization and the intensity of malaria transmission. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 1987 ; 81 (Suppl. 2) : 19-25.
- Trape (J-F.), Pison (G.), Preziosi (M-P.), Enel (C.), Desgrées du Lou (A.), Delaunay (V.), Samb (B.), Lagarde (E.), Molez (J-F.) and Simondon (F.) - Impact of chloroquine resistance on malaria mortality (Impact de la résistance à la chloroquine sur la mortalité palustre). *C. R. Acad. Sci. (Sciences de la Vie)*, Elsevier, Paris, 1998 ; (321) : 689-687.
- Vaisse (D.), Michel (R.), Carnevale (P.), Bosseno (M-F.), Molez (J-F.), Peelman (Ph.), Loembe (M-T.), Nzingoula (S.) et Zoulani (A.) – Le paludisme à *Plasmodium falciparum*, et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. II. Manifestations cliniques du paludisme selon la parasitémie et le génotype hémoglobinique. *Med. Trop.*, 1981 ; 41 (4) : 413 –423,.
- Walliker (D.). - Genetic variation in Malaria Parasites. *British Med. Bull.*, 1982 ; 38 (2) : 123-128.
- Walliker (D.). - Characterization of *Plasmodium falciparum* of different countries. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, 1985 ; 65 (Suppl. 2) : 69-77.
- Walliker (D., Quakyi (I.A.), Wellems (T.E.), McCutchan (T.F.), Szarfman (A.), London (W.T.), Corcoran (L.M.), Burkot (T.R. and Carter (R.). - Genetic analysis of the Human Malaria Parasite *P. falciparum* . *Science*, 1987 ; 236 (Reports) : 1661-1666.
- Walter (P.). - Paludisme et pathologie placentaire. *Etudes médicales* 1987; 3 : 163-168.
- Walter (P.), Garin (J.F.), Blot (Ph.) et Philippe (E.). - Placenta et paludisme. Etude morphologique et clinique. *J. Gyn. Obst. Biol. Repr.*, 1981 ; 10 : 535-542.
- Walter (P.), Garin (J.F.) and Blot (Ph.). - Placental pathologic changes in malaria histologic and ultrastructural study. *Am. J. of Path.*, 1983 ; 109 (3) : 330-342.
- Wernsdorfer (W.H.). – Epidemiology of drug resistance in malaria. *Acta Trop.*, 1994 ; 56 : 143-156.
- Willcox (M.). – Beta thalassemia and the malaria hypothesis : a study in Liberia. *Thesis, Karolina Institute*, Stockolm, Sweden, 1982 ; 99p.
- Yamada (M.), Steketee (R.), Abramowsky (C.) Kida (M.), Wirima (J.), Heymann (D.), Rabbege (J.), Breman (J.) and Aikawa (M.). – *P. falciparum* associated placental pathology : a light and electron microscopic and immunohistologic study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1989 ; 41 : 161-168.
- Yuthavong (Y.) and Wilairat (P.). – Is the high incidence of Malaria in apha-thalassaemic children evidence against the « Malaria Hypothesis » ?. *Parasitology Today*, 1997 ; 13 (6) : 207-208.

4^{ème} Partie

INFECTION PALUSTRE PLACENTAIRE & PERINATALITE

Sélection d'articles

L'INFECTION PALUSTRE PLACENTAIRE

1 / - Infection placentaire et paludisme urbain

Molez J-F., Bosseno M-F., Carnevale P., Traoré S.G. et Guienhoun O. - Infection placentaire itérative à *Plasmodium falciparum* au cours de deux grossesses successives. *Bull. Soc. Path. exot.*, **82** (3) : 373-380, 1989.

Molez J-F., Bosseno M-F., Traoré S.G., Carnevale P. et Gazin P. - Infection placentaire et paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Cahiers Santé*, **2** : 176-179, 1992.

Molez J-F. et Bosseno M-F. - Avaliação da transmissão da malária pela aplicação de lâminas na placenta em maternidades. *Poster*: XXXVIIIe Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (24-28.02.02), Iguazu, Brasil, 2002.

2 / - Age, parité et risques néo-nataux

Molez J-F., Carnevale P., Traore S.G., Sanou J.M., Bazie A.J. & Diagne M. - Données sur l'association paludisme et grossesse fournies par l'examen de 215 placentas dans deux maternités de Bobo- Dioulasso. XXIIIème Conf. Techn. de l'OCCGE., avril 1983, Ouagadougou, Burkina-Faso.

Molez J-F., Bosseno M-F. et Traoré S.G. - Poids de naissance, infection palustre placentaire et déficit pondéral saisonnier à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Malaria*, **3** : 4-8, 1995.

Gazin P., Compaoré M-P., Hutin Y. et **Molez J-F.** - Infection palustre du placenta par les *Plasmodium* en zone d'endémie. Les facteurs de risque. *Bull. Soc. Path. exot.*, **87** : 97-100, 1994.

Carnevale P., Bosseno M-F., Pangui E., **Molez J-F.**, Frezil J.-L. et Richard-Lenoble D. - Observations parasitologiques sur le paludisme congénital à l'Hôpital Militaire de Brazzaville, Rep. Pop. du Congo. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, **23** (2) : 87-94, 1985.

3 / - typage des souches placentaires de *P. falciparum*

Molez J-F., Carnevale P. et Bosseno M-F. - Variations enzymatiques chez *P. falciparum* à Brazzaville (Rep. Pop. Congo). *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 1984 ; **22** (1) : 35-42.

Sanderson A., Walliker D. and **Molez J-F.** - Enzyme typing of *Plasmodium falciparum* from African and some other world countries. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981 ; **75** (2) : 263-267.

L'IMMUNITÉ ANTI-PALUSTRE

1 / - Immunité et anticorps anti-palustres

Robert V., Gazin P., Boudin C., **Molez J-F.**, Ouédraogo V. et Carnevale P. - La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone rizicole des environs de Bobo-Dioulasso. *Ann. Soc. Belge Méd. trop.*, 1985 ; 65 (Suppl. 2) : 201-214.

Carne B., Guillo du Bodan H., **Molez J-F.** et Trape J-F. - Etude rétrospective sur la mortalité de l'enfant de moins de 5 ans dans une zone rurale de la région de Brazzaville (Rep. Pop. du Congo), I. Taux et causes de mortalité. *Bull. Soc. Path. exot.*, 77 (1) : 104-114, 1983.

Garraud O., Diouf A., Nguer C. M., Dieye A., Longacre S., Kaslow D. C., Holders A. A., Tall A., **Molez J-F.**, Perraut R. and Mercereau-Puijalon O. - Different *Plasmodium falciparum* recombinant MSP1₁₉ Antigens Differ in Their Capacities to Stimulate In Vitro Peripheral Blood T Lymphocytes in Individuals from Various Endemic Areas. *Scand. J. Immunol.*, 49 : (4) 431-440, 1999.

2 / - Immunité de prémunition et chloroquinisation

Molez J-F., Brandicourt O., Peelman P., Duboz P., Moussoki J., Carnevale P. et Druilhe P. - Immunologie appliquée au paludisme : Dynamique de l'acquisition de la prémunition antipalustre en zone rurale autour de Brazzaville et effets de la chloroquinisation. *Bull. OCEAC* (N° Spécial XIVème Conf. Techn. de l'OCEAC, Yaoundé, Cameroun), 54-63, 1982.

Brandicourt O., Carnevale P., Baudon D., **Molez J-F.**, Gazin P., Danis M., Duflo B. et Gentilini M. - Influence de la chimioprophylaxie ou de la chimiothérapie par la chloroquine sur l'acquisition des anticorps fluorescents antipalustres en zone de savane. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.* , 67 (1), 17-22, 1987.

LES STRATEGIES DE LUTTE ANTI-PALUSTRE

1 / - Stratégie antipalustre pour les groupes à risque

Molez J-F., Zei M.P., Carnevale P., Traore S.G., Bosseno M-F., Guenhoun O., Sanou S. et Akinocho Y. - Nécessité en P.M.I. de "cibler" les jeunes pères (primipares ou secondes pères), pour un meilleur contrôle du paludisme chez la femme enceinte. Communication: XXVème Conf. Techn. de l'OCCGE (15-19.04.85), Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso, 1985.

Faye O., Konaté L., Fontenille D., Gaye O., Sy N., Diop A., Diagne M. et **Molez J-F.** - Impact de l'utilisation des moustiquaires pré-imprégnées de perméthrine sur la transmission du paludisme dans un village hyperendémique du Sénégal. *Méd. Trop.*, 58 (4) : 355-360, 1998.

2 / - Chloroquine, résistance, morbidité et mortalité

Sokhna C.S., **Molez J-F.**, Ndiaye P., Sane B. et Trape J-F. - Tests *in vivo* de chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine au Sénégal : évolution de la résistance et estimation de l'efficacité thérapeutique. *Bull. Soc. Path. exot.*, 90 (2) : 83-89, 1997.

Gaye O., Babou I., Faye O., Fall A., **Molez J-F.**, Bah I.B., et Diallo S. - Morbidité palustre et efficacité thérapeutique des antipaludéens. Etude menée dans la région de Dakar. *Med. Trop.*, 53 (4) : 479-485, 1993.

Trape J-F., Pison G., Preziosi M-P., Enel C., Desgrées du Lou A., Delaunay V., Samb B., Lagarde E., **Molez J-F.** and Simondon F. - Impact of chloroquine resistance on malaria mortality (Impact de la résistance à la chloroquine sur la mortalité palustre). *C. R. Acad. Sci. (Sciences de la Vie)*, Elsevier, Paris, (321) : 689-687, 1998.

LA RESISTANCE HOTE ET PARASITE

1 / - Résistance et polymorphisme hémoglobinique

Molez J-F. - Les relations entre le gène de la drépanocytose et l'infection palustre en Afrique intertropicale : Rep. Pop. du Congo, Burkina Faso et Rep. du Niger. *Bull. liais. doc. OCEAC* (ISSN 0255 5352), 26 (2) : 5-15, 1993.

Molez J-F., Peelman Ph., Carnevale P., Bosseno M-F., Morault B., Vaisse D. et Nzingoula S. - Etude clinique et sérologique de 19 accès pernicieux chez l'enfant Congolais (17 homozygotes AA, et 2 hétérozygotes AS). *Bull. OCEAC* (N° Spécial XIVème Conf. Techn. de l'OCEAC., Yaoundé, Cameroun), 106-114, 1982.

Devoucoux R., Hurpin C., Baudon D., **Molez J-F.**, Roux J., Guilloud-Bataille M., Carnevale P. and Feingold J. - Population genetics of abnormal haemoglobins in Burkina Faso, West Afrca. *Ann. Human Biology*, 1991 ; 18 (4) : 295-302.

2 / - Mécanisme parasitaire de chimiorésistance

Robert V., **Molez J-F.**, Trape J-F. - Gametocytes, chloroquine pressure and the relative advantages of resistant strains of *falciparum* malaria in West Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1996, 53 (3), 350-351.

Molez J-F., Robert V. et Trape J-F. - Souches chloroquinorésistantes de *Plasmodium falciparum*, infectivité du vecteur anophélien et utilisation des antipaludéens. *Bull. Soc. Med. Afr. Noire*, N° Spécial Quarantenaire (S.G.ISSN 0049-1101), 7-9, 1998.

Molez J-F. et Gaye O. - Un gamétocytocide associé au traitement antipaludique shizonticide sera-t-il bientôt nécessaire en zone de chimiorésistance ? *Médecine Trop.*, 57 (4) : 97, 1997.

INFECTION PLACENTAIRE ITÉRATIVE
A *P. FALCIPARUM*
AU COURS DE DEUX GROSSESSES SUCCESSIVES
A BOBO-DIOULASSO (BURKINA-FASO)

Par J. F. MOLEZ⁽¹⁾ (*), M. F. BOSSENO⁽²⁾ (*), S. G. TRAORE (**),
O. GUIENHOU (*) & P. CARNEVALE⁽³⁾ (*) (***)

RÉSUMÉ

A Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso), deux infections placentaires à Plasmodium falciparum ont été décelées chez une femme de 22 ans à 15 mois d'intervalle. Il s'agissait chez cette parturiente de sa première et deuxième gestation. A chacun de ses accouchements la parturiente est restée apyrétique, et il n'existait pas de parasitémie dans le sang périphérique. Les deux nouveau-nés n'ont pas présenté de souffrance fœtale, ni de déficit pondéral, et aucun des deux enfants n'a développé un paludisme congénital.

Cette jeune femme a présenté des épisodes hyperthermiques au 6^e et au 9^e mois pour la première grossesse, et au 4^e mois pour la seconde. Les examens anatomoparasitologiques permettent d'affirmer que ces deux parasitémies placentaires datent du dernier trimestre de grossesse. La première peut être rapportée à l'accès du 9^e mois dont le traitement a été incomplet. La seconde est issue d'une parasitémie palustre sans signe clinique, qui est passée inaperçue chez la parturiente, peu de temps avant l'accouchement.

Mots-clés : *Plasmodium falciparum*, INFECTION PLACENTAIRE, GROSSESSES SUCCESSIVES, BURKINA FASO.

SUMMARY

Pregnant women contaminated by *P. falciparum* placental infection in two successive pregnancies in Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso).

A young woman living in a malaria endemic area in West Africa, was contaminated twice with placental infection by Plasmodium falciparum, in two successive pregnancies. No parasites were observed on blood smears both in mother peripheral blood and in cord blood. A parasitemia was described in the intervillous space in the placental. The first placental infection was attributed to a febrile illness ten days before the end of gestation.

(*) Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz (OCGE), B. P. 171, Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso.

(**) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Général de Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso.

(***) Manuscrit n° 881. Séance du 10 mai 1989.

Adresse actuelle :

(1) ORSTOM, 213, rue La Fayette, 75480 Paris Cedex 10, France.

(2) ORSTOM, B. P. 5043, 34032 Montpellier Cedex, France.

(3) Antenne ORSTOM auprès de l'OCEAC, B. P. 288, Yaoundé, Cameroun.

No reliable symptoms of malaria were found for the second infection. Treatments for fever during pregnancy were given, at 6 and 9 months for the first gestation, and at 4 months for the second gestation.

Investigations are correlated with the age of the two placental infections, the second infection is a very young and synchronic parasitemia. No fatal diseases, no low birth weight or congenital malaria were observed on newborns during the both gestations.

Key-words : *Plasmodium falciparum*, PLACENTAL INFECTION, SUCCESSIVES PREGNANCIES, BURKINA-FASO.

INTRODUCTION

Au Burkina-Faso, nous avons suivi une parturiente de 22 ans Mme Dj... Aw... qui s'est présentée à deux reprises à 15 mois d'intervalle, pour accoucher dans le Service de maternité-obstétrique de l'Hôpital général de Bobo-Dioulasso. Une première fois le 18 janvier 1983, et une seconde fois le 20 avril 1984. Pour chaque accouchement, cette parturiente a présenté un placenta fortement parasité par *Plasmodium falciparum*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans le cadre d'une vaste étude réalisée sur deux années et demie (1983-1985), dans le but d'apprécier l'importance du paludisme chez la femme enceinte en zone d'endémie palustre, nous avons examiné au microscope les prélèvements de 1 281 placentas récoltés dans deux maternités de Bobo-Dioulasso (18, 19).

Les examens frottis/goutte épaisse sont effectués en salle d'accouchement sur le sang de la mère et sur le sang du cordon. Au moment de la délivrance, on pratique également une apposition sur lame d'une coupe de placenta. Les placentas sont emportés au laboratoire et les lames sont aussitôt colorées au May-Grunwald Giemsa. Si l'empreinte du tissu placentaire est trouvée positive à l'examen microscopique, on réalise d'autres frottis sanguins à partir du sang des espaces intervillositaires. Par ailleurs, pour dépister un paludisme congénital, de nouveaux frottis sanguins sont réalisés à J3 (au moment de la sortie du Service de Maternité), et la mère avec l'enfant sont reconvoqués à J10 pour des frottis de contrôle.

COMPTE RENDU CLINIQUE ET OBSTÉTRICAL

La parturiente ne présentait pas de passé clinique ni gynécologique particulier. Nous n'avons pas retrouvé à l'interrogatoire d'antécédent d'avortement ou de fausse couche pouvant faire penser à une prédisposition pour les infections palustres placentaires. Cette femme est de génotype hémoglobinique AA.

Compte rendu des deux grossesses.

Pour la première grossesse, nous ne retrouvons pas d'antécédent particulier avant le sixième mois. Par la suite, la parturiente a présenté deux épisodes hyper-

thermiques, le premier au sixième mois, et le second dix jours avant l'accouchement. La parturiente a été soignée en dispensaire comme s'il s'agissait d'accès palustre (sans qu'il soit pratiqué de frottis/goutte épaisse). Le premier accès pyrexique a été traité avec six ampoules de Quinimax® 400 mg en intra-musculaire, et le second avec trois ampoules.

A propos de la seconde gestation, nous retrouvons un seul épisode hyperthermique au quatrième mois de grossesse. La parturiente a été traitée en dispensaire avec six ampoules de Quinimax® 400 mg en intra-musculaire, toujours sans qu'il soit pratiqué de frottis/goutte épaisse. Cette démarche thérapeutique est classique en Afrique noire, surtout en zone d'endémie à *P. falciparum*, où tout épisode hyperthermique est considéré comme étant un accès palustre et traité en conséquence.

Compte rendu des deux accouchements.

Les deux accouchements se sont effectués sans incident pendant le travail. A aucun moment la parturiente et les nouveau-nés n'ont présenté de signes cliniques de parasitémie palustre, pour le suivi des deux accouchements, se reporter aux tableaux I et II. A chacun des deux accouchements, nous n'avons pas pu rechercher s'il existait une splénomégalie palpable chez l'accouchée.

TABLEAU I

Mère.

Mère	lésions macro.	placenta	hyperthermie			frottis/G.E.		
		parasitémie	J0	J3	J10	J0	J3	J10
1er accouchement	non	<i>P. falciparum</i>	non	non	non	neg	neg	/
2e accouchement	non	<i>P. falciparum</i>	non	non	non	neg	neg	neg

TABLEAU II

Nouveau-nés.

Nouveau-nés	souffrance foetale	sexe	poids	génotype Hb.	splénomégalie		hyperthermie			frottis/G.E.		
					J0	J10	J0	J3	J10	J0	J3	J10
1er accouchement	non	M	3700g	AA + F ₁	non	non	non	non	non	neg	neg	/
2e accouchement	non	F	3000g	AA + F	non	non	non	non	non	neg	neg	neg

L'INFECTION PALUSTRE PLACENTAIRE

Rappels sur l'infection placentaire.

Dans le placenta tous les stades de développement de *P. falciparum* peuvent être observés car il existe une multiplication locale des parasites. Sa colonisation par l'hématozoaire se réalise à partir de la circulation sanguine générale après passage d'une hématie parasitée par un jeune trophozoïte, en effet la pénétration dans les espaces intervillositaires nécessite une certaine déformabilité des hématies (5). Tout d'abord synchrone, la parasitémie placentaire se développe très rapidement, apparaît secondairement une réaction macrophagique qui est de plus en plus importante. Elle est le témoin de l'intense activité phagoocytaire développée par l'organisme pour juguler la parasitémie des espaces intervillositaires (11, 20, 24). Dans un troisième temps, l'infection placentaire disparaît, la parasitémie a été « nettoyée » par l'activité phagoocytaire, et on ne retrouve que la prolifération de « macrophages témoins » chargés d'hémozoïne (1, 10, 20).

Conséquences sur le nouveau-né.

Avec le développement des hématozoaires intra-érythrocytaires, les hématies parasitées perdent progressivement leur pouvoir de déformation, et elles vont être séquestrées dans les espaces intervillositaires. La prolifération parasitaire va augmenter à chaque cycle schizogonique dans les laes sanguins intervilleux si la réaction macrophagique n'est pas assez développée, il va se réaliser un cercle vicieux parasitaire, avec multiplication très intense des hématozoaires (4, 10, 14, 25). Le sang des espaces intervillositaires sert à alimenter et oxygéner le fœtus, une densité parasitaire très importante va provoquer un ralentissement de la circulation placentaire et une hypoxie fœtale. Ce sont des problèmes d'hémodynamique placentaire secondaires à la parasitémie qui vont entraîner des troubles du développement fœtal (7, 12, 13, 20). En début de grossesse on aura un avortement après mort fœtale par hypoxie, et à partir de la seconde moitié de la grossesse on aura un prématuré par gestation raccourcie, ou un ralentissement du développement fœtal avec déficit pondéral à la naissance (16, 24).

Examen parasitologique des deux placentas.

L'examen microscopique de l'empreinte de placenta permet d'étudier la parasitémie érythrocytaire des laes sanguins intervilleux. Nous avons observé dans le sang des espaces intervillositaires des deux placentas des densités parasitaires assez importantes, avec 14 % de parasitémie érythrocytaire pour la seconde grossesse. L'aspect des deux parasitémies placentaires est décrit dans le tableau III.

Pour la première grossesse nous avons observé dans le placenta une parasitémie érythrocytaire asynchrone, avec une activité phagoocytaire qui est bien développée. Il existe de gros amas d'hémozoïne accumulés dans les macrophages. L'examen microscopique du second placenta montre une parasitémie très jeune, elle est pratiquement synchrone; on est au stade de réinvasion érythrocytaire.

TABLEAU III
Aspects de la parasitémie placentaire à *P. falciparum*.

P.	stades parasitaires			réaction cellulaire			activité macrophagique des monocytes			
	falc.	%	trophozoïtes schizontes rosaces	monocytes	lymphocytes polynucléaires	sans	avec	phagocytose hématoïne		
1 ^{re} placenta	1%	30%	65%	9%	72%	16%	12%	5%	24%	71%
2 ^{de} placenta	14%	99%	0,5%	0,5%	60%	27%	1%	7%	42%	51%

* = parasitémie érythrocytaire ($\pm 0,5\%$)

La réaction macrophagique est peu développée, avec présence de quelques rares rosaces phagocytées (il semble qu'il n'y ait eu qu'un seul cycle schizogonique dans les espaces intervillositaires), l'activité phagocytaire est faible, seuls quelques macrophages renferment un peu d'hématoïne.

DISCUSSION

Ancienneté de l'infection placentaire.

Il est possible d'estimer l'ancienneté de la parasitémie d'après l'importance et l'aspect de la parasitémie et selon le degré de réaction macrophagique.

La parasitémie observée dans le premier placenta est âgée d'au moins une semaine, l'accès palustre primitif doit correspondre avec l'épisode hyperthermique retrouvé dix jours avant la fin de la grossesse. Pour le second placenta, l'infection palustre est très récente, elle date de quelques jours avant l'accouchement, ce qui explique la parasitémie assez importante dans les espaces intervillositaires. Cependant, dans l'infection placentaire à *Plasmodium falciparum*, les fortes parasitémies se rencontrent plus souvent en début de gestation. En effet, en début de grossesse il existe un déficit de l'immunité anti-palustre (6, 11, 16, 21), les parturientes présentent une réaction macrophagique plus lente et moins intense, et les parasitémies peuvent persister plus longtemps (3, 5).

Pour la seconde grossesse, à l'interrogatoire de la mère, on ne retrouve pas d'accès palustre récent, comme les personnes en zone d'endémie palustre possèdent un certain seuil de tolérance parasitaire (9, 15, 22), pour cette parturiente la parasitémie circulante initiale a donc rapidement disparu sans signes cliniques, alors que se développait une parasitémie secondaire dans le placenta.

Considérations sur les deux nouveau-nés.

Les deux enfants sont nés sans souffrance fœtale pendant le travail et sans déficit pondéral, le poids moyen de naissance à Bobo-Dioulasso étant de 2 820 g (± 330 g) pour le sexe ♂ et de 2 760 g (± 200 g) pour le sexe ♀ (20). Pour ces deux grossesses la parasitémie des espaces intervillositaires n'a pas entraîné de ralentissement dans le développement *in utero*, certainement par le fait que ces deux infections placentaires soient assez jeunes. Il n'y a pas de déficit pondéral dans les infestations placentaires tardives (16, 20), car en fin de gestation la réaction macrophagique est rapide et plus intense, ce renforcement du pouvoir phagocytaire s'explique par l'amélioration de l'immunité antipalustre en fin de grossesse (3, 23).

Pour les deux accouchements nous n'avons pas retrouvé d'infection plasmodiale dans le sang de cordon, il n'y a pas eu de passage trans-placentaire de l'hématozoaire, ceci a été confirmé par les frottis retrouvés négatifs à J3 et J10. En fait le paludisme congénital est rare (7, 8, 12, 17), le passage de l'hématozoaire ne s'effectuant qu'à l'occasion de micro-lésions placentaires au moment de l'accouchement (1, 10, 14, 24).

CONCLUSION

Remarques sur le traitement antipalustre.

Les deux traitements (6 ampoules de Quinimax[®] 400 mg en IM), effectués au 6^e mois pour la première grossesse, et au 4^e mois pour la deuxième grossesse, semblent avoir été efficaces pour combattre l'hématozoaire chez la parturiente (en supposant que les épisodes hyperthermiques étaient bien d'origine paludéenne). Dans le cas contraire on aurait certainement assisté à un accouchement prématuré pour la première grossesse, et à un avortement pour la seconde grossesse.

Par ailleurs le demi-traitement en fin de deuxième grossesse (3 ampoules IM au 9^e mois), s'il a pu faire disparaître les signes cliniques de l'accès palustre (très souvent un traitement est arrêté pour cette raison), s'est montré inefficace pour empêcher secondairement l'installation de la parasitémie placentaire.

Chez une parturiente un traitement immédiat et efficace de l'accès palustre est indispensable pour éviter une infection secondaire du placenta. Cependant, chez les femmes enceintes, en zone d'endémie à *Plasmodium falciparum*, la prophylaxie bien conduite reste le seul moyen pour éviter un accident fœtal.

Conclusions sur l'infection placentaire palustre.

Comme nous avons pu le constater pour ces deux accouchements, il n'existait pas de corrélation entre la colonisation par l'hématozoaire des espaces intervillositaires et la parasitémie périphérique qui était absente chez l'accouchée. En zone d'endémie palustre il faut savoir qu'au moment de l'accouchement, chez une femme apyrétique et n'ayant pas suivi de chimioprophylaxie régulière,

il ne faudra jamais exclure une atteinte parasitologique placentaire, même s'il n'existe pas de parasitémie circulante (7, 8, 12, 13, 20, 24).

Notre parturiente avait moins de 25 ans, et il s'agissait de sa première et deuxième gestation, il faut savoir qu'une jeune mère (en âge et en nombre de gestation) a plus de probabilités de développer une parasitémie placentaire que les grandes multigestes (2, 3, 7, 12, 24). Ces dernières semblent moins sensibles à l'infection palustre par *P. falciparum*, mieux immunisées elles maîtrisent mieux cette prolifération parasitaire profonde, la parasitémie placentaire est moins importante, et la réaction macrophagique est plus efficace et plus précoce (2, 4, 5, 16, 20, 26).

REMERCIEMENTS

Ce travail entre dans le cadre d'une étude plus vaste qui a fait l'objet d'une subvention MIR, Commission Santé et Développement N° B 56 63 L 1222.

Nous remercions les sages-femmes du Service de maternité-obstétrique de l'Hôpital général de Bobo-Dioulasso pour leur aide.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANTHONIOZ (Ph.), CORREA (P.), LAURON (J.) & BAH (M. D.). — Association paludisme et grossesse : données fournies par l'examen de 607 placentas. *Dakar Medical*, 1979, 24 (1), 103-111.
2. ARCHIBALD (H. M.). — Influence of maternal malaria on newborn infants. *Brit. Med. Journ.*, 1958 (2), 1512-1514.
3. BRABIN (B. J.). — An analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bull. Wrd. Hlth. Org.*, 1983, 66, 1005-1016.
4. BRAY (R. S.) & ANDERSON (M. J.). — *Falciparum* malaria and pregnancy. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1979, 73, 427-431.
5. BRUCE-CHWATT (L. J.). — Malaria in african infants and children of southern Nigeria. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1952, 46, 173-200.
6. CAMPBELL (C. C.), MARTINEZ (J. M.) & COLLINS (W. E.). — Seropidemiological studies of malaria in pregnant women and newborns from coastal El Salvador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1980, 29, 151-157.
7. CANNON (D. S. H.). — Malaria and prematurity in the western region of Nigeria. *Brit. Med. Journ.*, iv, 1958, 877-878.
8. CARNEVALE (P.), BOSSENO (M. F.), PANGUI (E.), MOLEZ (J. F.), FREZIL (J. L.) & RICHARD-LENOBLE (D.). — Observations parasitologiques sur le paludisme congénital à l'Hôpital militaire de Brazzaville, Rep. Pop du Congo. *Cah. ORSTOM. Sér. Ent. Med. et Parasitol.*, 1985, 23 (2), 87-94.
9. CARNEVALE (P.) & MOUCHET (J.). — Le paludisme en zone de transmission continue en région afrotropicale. *Cah. ORSTOM. Sér. Ent. Med. et Parasitol.*, 1980, 18 (2), 149-186.
10. GALBRAITH (R. M.), FAULK (W. P.), GALBRAITH (G. M. P.) & HOLBROOK (T. W.). — The human materno-fetal relationship in malaria: I. Identification of pigment and parasites in the placenta. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1980, 74, 52-60.
11. GILLES (H. M.), LAWSON (J. B.), SIBELAS (M.), VOLLER (A.) & ALLAN (N.). — Malaria, anaemia and pregnancy. *Am. Trop. Med. Parasit.*, 63, 1969, 245-263.
12. JELIFFE (E. F. P.). — Low birthweight and malarial infection of the placenta. *Bull. Wrd. Hlth. Org.*, 1968, 33, 69-78.

13. JILLY (P.). — Anaemia in parturient women, with special reference to malarial infection of the placenta. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1969, 63, 109-116.
14. LOKE (Y. W.). — Transmission of parasites across the placenta. In: BAKER J. R., MULLER R. (Ed.), *Advances in Parasitology*, London Academic Press, 1982, 21, 155-228.
15. MAC GREGOR (I. G.), WILLIAMS (K.), VOLLER (A.) & BILLIWICK (W. Z.). — Immunofluorescence and the measurement of immune response to hyperendemic malaria. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1965, 59, 395-414.
16. MAC GREGOR (I. G.), WILSON (M. E.) & BILLIWICK (W. Z.). — Malaria infection of placentae in Gambia, West Africa: its incidence and relationship to stillbirth, birthweight and placental weight. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1983, 77, 232-244.
17. MADECKI (O.) & KRETSCHMAR (W.). — Häufigkeit und Ursachen der Angeborenen Malaria in West-Afrika. *Tropenmed. Parasitol.*, 1966, 17, 195-210.
18. MOLEZ (J. F.), CARNEVALE (P.), TRAORE (S. G.), SANOU (J. M.), BAZIE (A. J.) & DIAGNE (M.). — Données sur l'association paludisme et grossesse fournies par l'examen de 215 placentas dans deux maternités de Bobo-Dioulasso. XXIII^e Conf. Techn. de l'OCCGE, 11-12 avril 1983, Ouagadougou, Burkina-Faso.
19. MOLEZ (J. F.), ZEI (M. P.), CARNEVALE (P.), TRAORE (S. G.), BOSSENO (M. F.), GUIENHOUN (O.), SANOU (S.) & AKINOCHO (Y.). — Nécessité en PMI de « cibler » en priorité les jeunes primigeste ou seconde geste pour un meilleur contrôle du paludisme chez la femme enceinte (Doc. Tech. OCCGE, n° 8 726/85), XXIV^e Conf. Techn. de l'OCCGE, avril 1985, Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso.
20. MOLEZ (J. F.), BOSSENO (M. F.) & OUEDRAOGO (F.). — Paludisme et périnatalité. Étude du paludisme chez la femme enceinte en Afrique noire, parasitologie placentaire et conséquences fœtales. Ministère de la Recherche et de l'Industrie, Commission Santé et Développement, Rapport 356 83L 1222, novembre 1986.
21. REINHART (M. C.). — Effects of parasitic infections in pregnant women. *Ciba Found. Symp.*, 1980, 77, 149-170.
22. REINHART (M. C.), AMBROISE-THOMAS (P.), CAVALLO-SFERA (R.) *et al.* — Malaria at delivery in Abidjan. *Helv. Paediatr. Acta* 33 (suppl. 41), 1978, 65-84.
23. VAN ZON (A. A. J. C.), ELING (W. M. C.) & HERMSEN (C. C.). — Pregnancy-induced recrudescences strengthen malarial immunity in mice infected with *Plasmodium berghei*. *Parasitology*, 1985, 91, 9-17.
24. WALTER (P.), GARIN (J. F.), BLOT (Ph.) & PHILIPPE (E.). — Placenta et paludisme. Étude morphologique et clinique. *J. Gyn. Obst. Biol. Repr.*, 1981, 10, 535-542.
25. WALTER (P.). — Paludisme et pathologie placentaire. *Études Médicales*, 1987, 3, 163-168.
26. WALTER (P.), GARIN (J. F.) & BLOT (Ph.). — Placental pathology changes in malaria histologic and ultrastructural study. *Am. J. of Path.*, 1983, 109 (3), 330-342.

3^e CONGRES INTERNATIONAL DE MEDECINE TROPICALE DE LANGUE FRANÇAISE



LOME (Togo) 5-6-7-8 NOVEMBRE 1990

Présidents : H. FELIX, P. BEGUE
et K. KESSIE

940

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE PATHOLOGIE EXOTIQUE

Avec ce type d'enquête, il a été possible de caractériser une zone de plus forte transmission du centre ville, que les études entomologiques plus difficiles à réaliser en milieu urbain qu'en milieu rural n'avaient pas permis de saisir.

Mots-clés : PALUDISME, INFECTION PALUSTRE, BOBO DIOULASSO, BURKINA FASO.

INFECTION PLACENTAIRE ITÉRATIVE A *P. FALCIPARUM* AU COURS DE DEUX GROSSESSES SUCCESSIVES A BOBO-DIOULASSO (BURKINA FASO)

Par J. F. MOLEZ (*), M. F. BOSSENO (*), S. G. TRAORE (**),
O. GUIENHOU (*) & P. CARNEVALE (*) (***) (****)

A Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), deux infections placentaires à *Plasmodium falciparum* ont été décelées chez une femme de 22 ans, à 15 mois d'intervalle. Il s'agissait chez cette parturiente de ses première et deuxième gestation. A chacun de ses accouchements, la parturiente est restée apyrétique, et il n'existait pas de parasitémie dans le sang périphérique. Les deux nouveau-nés n'ont pas présenté de souffrance fœtale, ni de déficit pondéral, et aucun des deux enfants n'a développé un paludisme congénital.

Cette jeune femme a présenté des épisodes hyperthermiques au 6^e et au 9^e mois pour la première grossesse et au 4^e mois pour la seconde. Les examens anatomo-parasitologiques permettent d'affirmer que ces deux parasitémies placentaires datent du dernier trimestre de grossesse. La première peut être rapportée à l'accès du 9^e mois dont le traitement a été incomplet. La seconde est issue d'une parasitémie palustre sans signe clinique, qui est passée inaperçue chez la parturiente, peu de temps avant l'accouchement.

Mots-clés : INFECTION PLACENTAIRE, *P. falciparum*, BURKINA-FASO.

(*) ORSTOM, 213, rue La Fayette, 75480 Paris Cedex 10, France et Centre Muraz (OCCGE), BP 171, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

(**) ORSTOM, BP 5045, 34032 Montpellier Cedex, France et Service Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Général, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

(***) Antenne ORSTOM auprès de l'OCEAC, BP 288, Yaoundé, Cameroun.

(****) Communication affichée. Congrès de Lomé, 5-8 novembre 1990.

Infection placentaire et paludisme urbain à Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

Jean-François Molez, Marie-France Bosseno, Germain Traore,
Pierre Carnevale, Pierre Gazin

En Afrique au sud du Sahara, les études sur le paludisme urbain présentent un intérêt croissant car la population urbaine y est en pleine expansion. Ce travail complète les précédentes enquêtes entomologique, parasitologique et clinique concernant l'étude du paludisme urbain à Bobo-Dioulasso, seconde ville du Burkina Faso.

La nuisance des moustiques est due essentiellement aux *Culex* qui représentent 95 % de la faune culicidienne anthropophile (25 000 piqûres par homme et par an réparties sur toute l'année). Parmi les anophèles, seul *Anopheles gambiae* s.l. est présent de manière significative. Il est observé de août à octobre, voire jusqu'en décembre les années où les précipitations sont fortes et tardives. Le nombre total de piqûres d'*A. gambiae* par homme et par an varie de 75 à 300 dans les quartiers centraux et atteint 2 500 dans les quartiers périphériques en cours de lotissement. Avec un indice sporozoïtique faible, inférieur à 0,5 %, le taux de transmission varie de une piqûre infestée par homme chaque 2 à 7 ans dans les quartiers centraux à 5 piqûres infestées par an dans les quartiers périphériques [1].

Le taux de prévalence plasmodiale chez les enfants des quartiers centraux est bas (9 % chez les 1 à 10 ans, 14 % chez les 11 à 15 ans) sans grande variation saisonnière. Dans les quartiers périphériques, ces taux sont chez les 1 à 15 ans de 20 % en saison sèche et de 45 % en saison de transmission. Les densités parasitaires moyennes sont

toujours plus basses que celles observées en milieu rural [2].

Le paludisme est l'étiologie confirmée de 20 % des accès fébriles observés chez les consultants d'un dispensaire de la ville, cette part atteignant 52 % en octobre et novembre. Ce sont essentiellement les 2 à 9 ans qui sont atteints, le paludisme représentant un tiers des étiologies des fièvres chez eux [3]. Des chiffres et une répartition saisonnière comparables sont observés chez les hospitalisés en service de pédiatrie [4].

Dans ce volet, nous analysons les données concernant les parasitémiées placentaires à *Plasmodium falciparum* en tant qu'indicateur complémentaire du niveau d'endémie palustre en zone urbaine et sub-urbaine.

Matériel et méthodes

La ville de Bobo-Dioulasso

Bobo-Dioulasso comptait environ 230 000 habitants au moment de l'enquête (recensement national de 1985). C'est un important centre économique pour toutes les provinces du Sud-Ouest de Burkina Faso. La ville est relativement ancienne : certains quartiers centraux datent du siècle dernier, avec des maisons en *banco* imbriquées les unes dans les autres et des ruelles très étroites. Le centre ville et les quartiers avoisinants ont un schéma d'urba-

nisation en quadrillage et des grands axes de circulation bien dégagés. Les eaux de pluie et une partie des eaux domestiques y sont collectées dans de larges canaux à ciel ouvert. Par contre, les zones périphériques d'extension récente n'ont que très peu d'aménagements et les eaux stagnent fréquemment dans des bas-fonds argileux.

La ville est établie sur un petit cours d'eau, le Houët, dont le trajet intra-urbain coupe en deux l'agglomération. Il prend naissance dans la périphérie sud ; son lit très encaissé au centre ville s'élargit en aval à la sortie de l'agglomération. Il a un faible débit toute l'année, sauf au moment des pluies où il devient torrentiel.

Choix du découpage urbain

En tenant compte des précédentes études réalisées à Bobo-Dioulasso, nous avons individualisé différentes zones de transmission palustre (figure 1, p. 177) :

- une zone urbaine centrale, axée sur le cours d'eau ;

J.-F. Molez, M.-F. Bosseno, P. Gazin : ORSTOM/OCCGE, Centre Muraz, BP 171, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

G. Traore : Hôpital Souro Sanou, service de maternité-obstétrique, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

P. Carnevale : ORSTOM/OCEAC, BP 288, Yaoundé, Cameroun.

- deux zones bien urbanisées, de part et d'autre de la zone centrale ;
- deux zones périphériques, avec peu d'infrastructures organisées.

Couverture urbaine des maternités

Les placentas ont été récoltés dans les deux seules maternités de la ville de Bobo-Dioulasso (depuis, une troisième maternité a ouvert ses portes). Il s'agissait du service de maternité-obstétrique de l'hôpital Souro Sanou et de la clinique municipale Ouattara Guimbi. Selon les données de la Direction provinciale de la santé et nos propres observations, 90 % des parturientes viennent accoucher en maternité. Le recrutement des maternités dans toutes les couches sociales permet de réaliser des enquêtes auprès d'échantillons représentatifs de la population de la ville.

Étude des placentas

Les observations sur la prévalence palustre placentaire ont été effectuées durant les mois de juillet à décembre des années 1983 et 1984. Pour des raisons pratiques de laboratoire et de moyens humains, cette enquête a concerné uniquement les accouchements ayant lieu les jours ouvrables et pendant la matinée. Toutes les femmes accouchant dans les maternités à ces moments sont incluses dans l'enquête. Des appositions sont réalisées sur lame à partir des placentas coupés (empreinte de tissu). L'observation microscopique est faite après coloration au Giemsa. Une parasitémie intra-érythrocytaire est recherchée au niveau du sang des espaces intervillositaires. Tout placenta présentant une parasitémie intra-érythrocytaire est considéré comme positif.

Résultats

Sur les 342 appositions placentaires examinées, *Plasmodium falciparum* est responsable de l'infection de 47 d'entre eux, soit 14 %. C'est la seule espèce plasmodiale observée (Tableau 1).

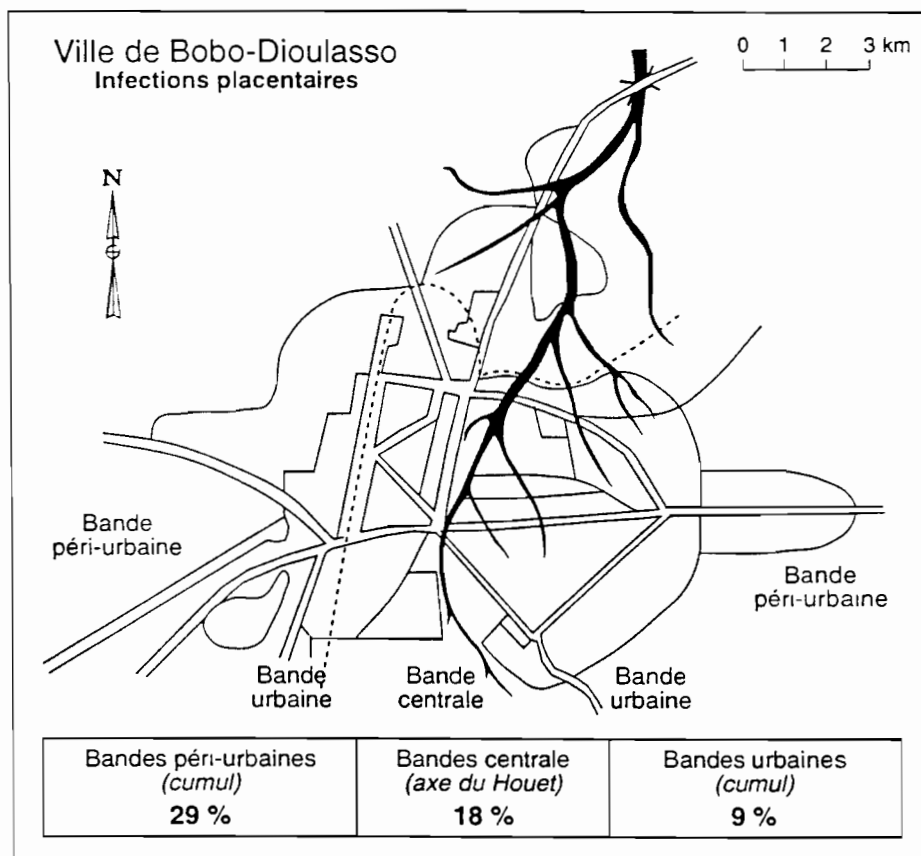


Figure 1. La ville de Bobo-Dioulasso : découpage selon le niveau de transmission palustre

Figure 1. The city of Bobo-Dioulasso and its different areas of malaria transmission.

La prévalence des placentas parasités (Tableau 2) est significativement plus élevée dans la zone centrale (18 %) axée sur le Houët, que dans les quartiers bien urbanisés situés de part et d'autre (9 %) ($p < 0,02$). Dans les zones périphériques, la prévalence atteint 29 % (différence significative avec l'ensemble des quartiers bien urbanisés, test de Fisher, $p = 0,05$). Ainsi le découpage de la zone urbaine en bandes nord-sud, axées selon le trajet du Houët, permet d'observer une différence significative entre la partie centrale et celles situées de part et d'autre.

Discussion

Existence d'une dynamique intra-urbaine de la transmission palustre

Au niveau de grandes villes africaines comme Ouagadougou, Brazzaville ou Dakar [5-7], il est classiquement observé de grandes différences d'un quartier à l'autre dans les niveaux de transmission palustre.

A Bobo-Dioulasso, il existe une hétérogénéité liée d'une part à l'existence

du cours d'eau, d'autre part à l'urbanisation lâche en périphérie. Les zones péri-urbaines présentent une prévalence élevée en accord avec le niveau de transmission plus important en milieu rural. Le recrutement réduit en parturientes originaires des zones périphériques s'explique par le faible peuplement de ces quartiers en cours de réalisation.

Variations saisonnières des parasitémies placentaires

La fréquence plus élevée des parasitémies placentaires en novembre et décembre correspond au pic de transmission palustre de septembre. Le cumul avec une autre enquête réalisant

une étude longitudinale sur plus de deux années (effectif de 1 281 placentas) confirme ce décalage de deux à trois mois entre les maxima de la transmission palustre et les maxima dans les infections placentaires.

Facteurs traditionnels et socio-économiques

Des habitants d'un niveau socio-économique faible habitent aussi bien dans le centre (vieille ville), que dans les quartiers périphériques. Les différences de taux d'infestation placentaire selon les quartiers ne sont pas explicables par des différences sociales, ni par l'accès aux structures sanitaires. Cepen-

Tableau 1

Variations mensuelles des infections palustres placentaires de juillet à décembre (Données cumulées 1983 et 1984)

	Juil./Août	Sept./Oct.	Nov./Déc.	Totaux
Placentas négatifs	173	65	57	295
Placentas parasités	23	6	18	47
Total des placentas examinés	196	71	75	342

Monthly variations of placental plasmodic infections from July to December (Data from 1983 and 1984 cumulated)

Tableau 2

Parasitémies placentaires et découpage de l'agglomération de Bobo-Dioulasso en zones axées sur le cours du Houët

Infection placentaire (<i>P. falciparum</i>)	Découpage en zones axées sur le Houët			Totaux
	zone centrale (axe du Houët)	zones urbaines	zones périphériques	
placentas négatifs	100	180	15	295
placentas positifs (% de positifs)	23 (18 %)	18 (9 %)	6 (29 %)	47 (13,7 %)
Totaux	123	198	21	342

Placental plasmodic infections and areas of the city of Bobo-Dioulasso

Summary

Urban malaria and placental infection in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

J.-F. Molez, M.-F. Bosseno, G. Traore, P. Carnevale, P. Gazin

Placental infection by *Plasmodium* was studied in Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) during two years from July to December. 342 pregnant women were included in the survey. Only *P. falciparum* was observed. The prevalence rate of placental infection was 14 %. This rate was higher in November and December (24 %) than during the four months before (11 %). It was also significantly higher by the women living near the little river of the city than by the women living in the other quarters of the city. Placental infection appeared to be an indicator of the malarial situation much more sensitive than the classic parasitological indexes in the children.

Cahiers Santé 1992, 2 : 176-9

nant, le quartier le plus central, autour duquel la ville s'est construite, a une population traditionaliste. Ceci influence probablement le comportement pendant la grossesse et l'attitude vis-à-vis de l'emploi d'une chimioprophylaxie palustre. Ce facteur a pu s'ajouter à l'effet du cours d'eau intra-urbain, mais il n'a pas été quantifié.

Conclusion

La méthode de surveillance parasitologique de la prévalence palustre à partir de l'empreinte de tissu placentaire est simple et peu coûteuse. Les sages-femmes peuvent réaliser ces prélèvements sans perdre beaucoup de temps. La méthode de l'empreinte de tissu placentaire utilisée comme marqueur épidémiologique dans l'étude du paludisme urbain permet d'obtenir des informations sur l'infection placentaire dans une population aux indices parasitologiques faibles, et elle semble bien adaptée aux zones urbaines dont le niveau de transmission est, du fait de sa faiblesse, difficile à évaluer.

Sachant que les infections placentaires surviennent surtout chez les primigestes ou chez les secondes gestes [8, 9], une telle surveillance épidémiologique devrait permettre de suivre efficacement cette tranche de parturientes particulièrement exposées aux infections palustres placentaires. Les prévalences placentaires observées dans les différentes maternités pourraient permettre un véritable contrôle de la prise réelle de la chimioprophylaxie palustre effectuée en consultation de PMI. Cette surveillance simple à mettre en œuvre peut devenir une sentinelle de la chloroquinorésistance des souches de *Plasmodium*. ■

Références

- 1 Robert V, Gazin P, Ouédraogo V, Carnevale P. Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso I. Étude entomologique de la transmission. *Cah ORSTOM, sér Ent Méd et Parasitol* 1986 ; 24 : 121-8.
- 2 Gazin P, Robert V, Carnevale P. Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso II Les indices paludologiques. *Cah ORSTOM, sér Ent Méd et Parasitol* 1987 ; 25 : 27-31.
- 3 Benasseni R, Gazin P, Carnevale P, Baudon D. Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso. III. Étude épidémiologique de la morbidité palustre. *Cah ORSTOM, sér Ent Méd et Parasitol* 1987 ; 25 : 165-70.
- 4 Baudon D, Galaup B, Ouédraogo L, Gazin P. Une étude de la morbidité palustre en milieu hospitalier au Burkina Faso. *Méd Trop* 1988 ; 48 : 9-13.
- 5 Rossi P, Belli A, Mancini L, Sabatinelli G. Enquête entomologique longitudinale sur la transmission du paludisme à Ouagadougou (Burkina Faso). *Parassitologia* 1986 ; 28 : 1-15.
- 6 Trape JF, Zoulani A. Malaria and urbanization in Central Africa : Part III Relationships between urbanization and the intensity of malaria transmission. *Trans Roy Soc Trop Med & Hyg* 1987 ; 81, Suppl. 2 : 19-25.
- 7 Verduyck J, Jancloes M. Étude entomologique sur la transmission du paludisme humain dans la zone urbaine de Pikine (Sénégal). *Cah ORSTOM, sér Ent Méd et Parasitol* 1981 ; 19 : 165-78.
- 8 Molez JF, Bosseno MF, Traore SG, et al. Infection placentaire itérative à *P. falciparum* au cours de deux grossesses successives à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Bull Soc Path Ex* 1989 ; 82 : 373-80.
- 9 Brabin BJ. An analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bull W H O* 1983 ; 66 : 1005-16.

Remerciements

Nous remercions le Dr A. Sanou (Clinique Ouattara Guimbi), ainsi que les sages-femmes des deux maternités pour leur aide.
Ce travail a bénéficié d'une subvention du Ministère français de l'Industrie et de la Recherche, Commission Santé et Développement n° B 56 63 L 1222.

Résumé

L'infestation placentaire par les *Plasmodium* a été étudiée à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) pendant deux ans, de juillet à décembre, chez 342 parturientes au total. Ce travail complète les précédentes enquêtes (entomologique, parasitologique et clinique) concernant l'étude du paludisme urbain dans la seconde ville du Burkina Faso.

P. falciparum est la seule espèce observée. Le taux d'infection placentaire est de 14 %. Il est plus élevé en novembre et décembre que durant les quatre mois précédents. Il est également significativement plus élevé chez les femmes habitant à proximité du cours d'eau qui traverse la ville que chez celles habitant les autres quartiers de la ville.

L'étude de l'infestation placentaire apparaît être un indicateur sensible de l'infestation palustre au sein d'un milieu urbain globalement peu favorable à la transmission.

3^e CONGRES INTERNATIONAL DE MEDECINE TROPICALE DE LANGUE FRANÇAISE



LOME (Togo) 5-6-7-8 NOVEMBRE 1990

Présidents : H. FELIX, P. BEGUE
et K. KESSIE

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE PATHOLOGIE EXOTIQUE

939

LE PALUDISME URBAIN ET INFECTION PLACENTAIRE A BOBO-DIOULASSO (BURKINA FASO)

Par J. F. MOLEZ (*), M. F. BOSSENO (*), F. OUEDRAOGO (*), J. P. PIGNOL (*),
G. TRAORE (**) & M. ZEI (**) (***)

A Bobo Dioulasso (Burkina Faso), des enquêtes sur l'infection palustre chez les parturientes ont été réalisées pendant deux années en milieu urbain (342 placentas examinés). Nous analysons les données concernant les parasitémies placentaires à *Plasmodium falciparum* en tant qu'indicateur du niveau palustre chez les femmes enceintes en zone urbaine.

En général, dans une agglomération urbaine, en zone impaludée en Afrique noire, il existe un phénomène de « distribution en cocarde » dans les niveaux de transmission palustre. A Bobo Dioulasso, à partir des données entomologiques, on a estimé que la transmission palustre était trente fois plus faible au centre ville par rapport aux zones suburbaines, et que dans ces zones, les populations étaient soumises à une transmission elle-même dix fois plus faible que dans la campagne avoisinante. En dehors de la ceinture périphérique qui présente un niveau de transmission plus élevé que la plupart des quartiers du centre ville, on remarque une fréquence plus élevée des infections palustres placentaires (de 21 %) dans un secteur urbain situé en aval du trajet d'un petit cours d'eau intra-urbain. Sa présence permet le maintien d'une population anophélienne minimum toute l'année, et fait apparaître une enclave de plus forte transmission palustre dans le centre ville.

Nous avons effectué un découpage de la ville, en tranches verticales, centré sur l'axe vertical sud-nord du cours d'eau intra-urbain. Ce découpage montre à l'analyse des données des parasitémies placentaires, qu'il existe une dynamique de transmission liée au trajet du cours d'eau inter-urbain. Ainsi, il existe une différence très significative entre la bande urbaine centrale du Houet et les deux bandes urbaines (est et ouest) de part et d'autre. Par ailleurs, les deux bandes péri-urbaines externes (est et ouest) présentent une prévalence élevée en accord avec le niveau de transmission plus important en milieu rural avec lequel ces deux bandes sont en contact. Ainsi, à Bobo Dioulasso, la dynamique de la transmission palustre urbaine est modifiée par la présence d'un petit cours d'eau intra-urbain qui va créer un axe central de plus forte transmission.

L'évaluation de la prévalence des parasitémies placentaires par quartiers ou secteurs urbains chez les parturientes permet d'aborder différemment l'étude de la transmission palustre urbaine.

(*) Antenne ORSTOM (Centre Muraz, OCCGE), BP 171, Bobo Dioulasso, Burkina Faso.

(**) Hôpital Sanou Souro, Bobo Dioulasso.

(***) Communication affichée. Congrès de Lormé, 5-8 novembre 1990.

IRD Avaliação da transmissão da malária pela aplicação de lâminas na placenta em maternidades



Jean-François Molez* & Marie-France Bosseno*

* Médico entomologista e parasitologista, Pesquisador do IRD, DIVAL-SIS, BRASÍLIA DF, IRD, CP 7091 Lago Sul, 71619-970, BRASÍLIA DF, BRASIL
http://www.ird.org.br/aboratorio_molez@brasil.ird.ird.fr

** Entomologista, IRD BP5045, 34032 MONTPELLIER, FRANÇA

Introdução

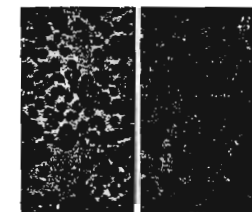
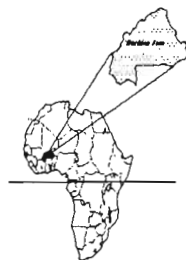
Nas regiões endêmicas para a malária na África intertropical, pesquisas sobre a malária tem um interesse renovado por causa da urbanização e da importância crescente da população não-imune. Um estudo da infecção da placenta entre mulheres grávidas foi realizado durante dois anos em duas maternidades na área urbana de Bobo-Dioulasso (Burkina-Fasso, África do oeste).

Material e método

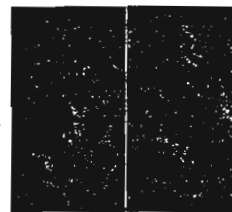
1.- Estudo na maternidade

Para fazer um exame parasitológico na placenta, realizou-se um imprint do corte da placenta na lâmina, imediatamente após o parto e as lâminas foram secadas rapidamente. Levadas a laboratório, foram fixadas com álcool e coradas com Giemsa. No microscópio buscou-se a presença dos hematozoários no sangue provenientes dos espaços inter-viduolares (esquizoantes). O *P. falciparum* pode atingir densidade parasitária elevadíssima.

Essa pesquisa foi realizada por pessoas que realizam partos, que não tem nenhuma formação particular para tal técnica. São anotados : a vitalidade do recém-nascido, seu peso, o aspecto da placenta e a cor do líquido amniótico. Um questionário foi preenchido com o endereço da residência da mãe (localizada num mapa da cidade), os episódios hipertérmicos, eventuais tratamentos contra malária, e deslocamentos durante os três últimos meses.



Imprint do corte da placenta e hemácias no sangue provenientes dos espaços inter-viduolares (esquizoantes). O *P. falciparum* pode atingir densidade parasitária elevadíssima.
 Molez J.F. Bosseno M.F.



Direito : macrofócos que contêm o pigmento malarico e macrofócos que contêm esquizoantes que normalmente são encontradas em vasos esplâncnicos
 Esquerdo : macrofócos que contêm o pigmento malarico (hemozoína)
 Molez J.F. Bosseno M.F.

2.- Parasitemia da placenta com *Plasmodium*

Uma placenta positiva apresenta uma parasitemia das hemácias. Trata-se geralmente de uma infecção na segunda parte da gestação (e frequentemente o recém-nascido é prematuro). No exemplo das infecções durante a primeira parte do gestação (frequentemente há um aborto), as mulheres grávidas desenvolvem uma reação macrofágica e a parasitemia desaparece. Permanecerá o pigmento malarico (hemozoína) acumulado no sincitio-trofoblasto, e alguns células macrofágicas que contem o pigmento malarico (testemunha da infecção) (1) (2)

3.- Zona de estudo

A cidade de Bobo-Dioulasso é povoada de 300,000 habitantes. Ela é dividida ao meio por um pequeno rio que diminui durante a estação da seca (clima soudano saheliano). A população constrói pequenos reservatórios naturais de água para manter as plantações feitas ao longo do curso do rio. Os distritos periféricos da cidade estão diretamente em ligação com a fauna vetorial rural, fauna esta que é responsável pela transmissão permanente da malária.

4.- Estudos complementares

A pesquisa foi complementada por várias investigações : estudos entomológicos (dinâmica de criadouros, densidade dos vetores anofelinos), parasitológicos (dissecação das glândulas salivares, prevalência dos hematozoários no sangue periférico das crianças em escolas) e clínicos (estudo do sangue dos pacientes hipertérmicos em Postos de Saúde). Essas investigações foram realizadas para avaliar a dinâmica da malária em todas as áreas urbanas e rurais em torno da cidade.

Conclusão
 Esse estudo mostrou que é possível investigar de maneira diferente a realidade da infecção por malária em áreas urbanas, onde os estudos entomológicos permanecem de difícil realização.
 O método de aplicação de lâmina na placenta é um indicador confiável e original na pesquisa da malária. Além disso ela é provavelmente um melhor indicador do que o tradicional índice parasitológico no sangue periférico das crianças (investigações em escola).
 Esta técnica poderia ser aplicada no Brasil, em maternidades localizadas em regiões endêmicas de malária.

Resultados

1.- Frequência das infecções da placenta

A frequência das infecções da placenta para malária foi de 13,5% (341 placentas examinadas), e a parasitemia da placenta é geralmente causada pelo plasmódio *P. falciparum*. As infecções foram contraídas provavelmente na residência da gestante, e o aspecto da parasitemia mostrou que trata-se do último trimestre de gravidez ou último quarto de gravidez (2) (3). Nossa investigação certificou-se de que as mulheres grávidas não se deslocaram para fora da cidade em zonas rurais de endemia durante os últimos quatro meses de gravidez.

Uma outra pesquisa longitudinal durante dois anos (3), mostrou que a frequência anual das infecções da placenta foi de 9,76% (860 placentas examinadas). As mulheres grávidas com parasitemia da placenta estavam na primeira (32,8%) ou segunda gestação (13,5%). As infecções da placenta para malária mostraram flutuações sazonais, com frequência de 24,5% no final das chuvas, e 1% no final da estação seca.

2.- Resultados entomológicos

As investigações entomológicas mostraram que o vetor principal foi *Anopheles gambiae*. O nível de transmissão vetorial na área rural foi de 10,8 picadas por homem e por noite, sendo 0,8 infectantes. A transmissão da malária mostrou flutuações sazonais, com o máximo de 41 picadas durante a estação de chuvas (1,9 picadas infectantes por homem e por noite), e o mínimo 0,3 picadas na estação seca (0 picadas infectantes por homem e por noite durante dois meses). Nos setores periféricos da cidade, a transmissão foi dez vezes mais baixa do que nas áreas rurais (3) (4).

A densidade do vetor estava relacionada às variações do fluxo do rio intra-urbano. Este rio permite a manutenção de uma população mínima de vetores ao longo do ano (com flutuações sazonais). Como os anofelinos foram capturados sempre em baixa densidade, a transmissão da malária urbana não foi demonstrada por dissecação das glândulas salivares. Nossos estudos entomológicos estimaram que a transmissão no centro da cidade foi trinta vezes mais baixa, do que nos setores periféricos (3) (4).

3.- A transmissão da malária intra urbana

A frequência das infecções da placenta mostraram que na zona central da cidade, há uma linha norte-sul de maior infecção pela malária, seguindo o curso do rio. A frequência das infecções foi 18% no centro, 16% rio acima e rio abaixo; 9% e 10,7% no oeste e no leste respectivamente em duas zonas laterais. O estudo longitudinal destas infecções da placenta com *P. falciparum* mostraram que a transmissão da malária apresentou flutuações sazonais principalmente durante a estação da seca.

Discussão

Na África, não existe a transmissão da malária no centro das cidades (ausência de anofelinos). Pesquisas sobre a transmissão nas cidades mostraram que nas zonas urbanas periféricas, ela está quase no mesmo nível que nas áreas rurais, mostrando assim o fenômeno da "distribuição concêntrica" da transmissão em cidades.

Já em Bobo-Dioulasso, as circunstâncias facilitam a presença do anofelino. Este estudo, tornou possível caracterizar uma zona de transmissão da malária mais forte no centro da cidade, que as pesquisas entomológicas não tinham permitido evidenciar até então.

O presente trabalho foi apoiado pelo MDR (Paris, França) e pelo IRD (Paris, França e Bobo-Dioulasso, Burkina Fasso).

Agradecemos o pessoal de maternidade do Hospital Soudo Fassou e da maternidade municipal do Bobo-Dioulasso e o pessoal técnico do Laboratório Malaria (COCCIS-ORSTOM) em Bobo-Dioulasso, Burkina Fasso.

ABSTRACT : In Africa, the development of large urban areas alters the malaria transmission level, with the urban populations becoming more susceptible to the *Plasmodium*. Generally, the transmission rates are distributed concentrically, with the highest rates at its periphery, and equal to the rural ones in the peripheral-suburban areas. A study has been carried in the city of Bobo-Dioulasso (West Africa, south of Burkina Faso) during two years, to survey the placental infection in the placenta. A large intra-urban river goes across the zone. The survey was carried in maternity units by technical staff with no particular skills. A field approach was realized on a section of the placenta (subsequent) and the peripheral's zone was localized on the site of the home. This study was completed with entomological, parasitological and clinical investigations. The global *P. falciparum* infection rate in the placenta was 13,5%. However, plotting the results on the map of the city showed a high level of infection in the center of the zone (18%). This method showed the occurrence of a central urban transmission form, not actually detected by entomological methods (collecting of Anopheles and dissection of salivary glands). Such investigations can be valid in any urban area, where entomological and parasitological studies are not so easy to apply. Placental infection rate revealed total to be a good test of the malaria infection, and is much more sensitive than the classic infection rates of the schoolchildren.

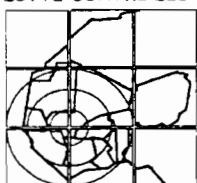
(1) Molez J.-F., Bosseno M.-F. et Traore S.G. - *Plasmodium falciparum* placental infection and clinical parasitology in Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Malaria J.* 4: 4, 1995.

(2) Molez J.-F., Bosseno M.-F., Traore S.G. - *Plasmodium falciparum* placental infection in zones d'endémie. Les facteurs de risque. *Bull. Soc. Path. exot.* 87: 97-100, 1994.

(1) Molez J.-F., Bosseno M.-F., Traore S.G., Compaoré P. et Gassé P. - Infection placentaire et paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Caderns Saude* 2: 176-179, 1992.

(2) Molez J.-F., Bosseno M.-F., Compaoré P., Traore S.G. et Compaoré O. - Infection placentaire intra-utérine à *Plasmodium falciparum* au cours de deux grossesses consécutives. *Bull. Soc. Path. exot.* 87(3): 373-380, 1994.

ORGANISATION DE COORDINATION ET DE COOPERATION POUR LA
LUTTE CONTRE LES GRANDES ENDEMIES.



Centre Muraz

O . C . C . G . E.

01 BP 153 Bobo Dioulasso 01
BURKINA FASO

XXIIIème CONFERENCE TECHNIQUE DE L'OCCGE
OUAGADOUGOU DU 11 AU 15 AVRIL 1983

**DONNEES SUR L'ASSOCIATION PALUDISME ET GROSSESSE
FOURNIES PAR L'EXAMEN DE 215 PLACENTAS
DANS DEUX MATERNITES DE BOBO-DIOULASSO**

(Travail de l'Equipe ORSTOM et du Département Paludologie du Centre Muraz)

J.F. MOLEZ *
P. CARNEVALE *
S.G. TRAORE **
S. SANOU ***
A.J. BAZIE **
M. DIAGNE ***

-
- * Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz - OCCGE
 - ** Maternité de l'Hôpital Sanou Sourou de Bobo-Dioulasso
 - *** Maternité Municipale Ouattara Guimbi de Bobo-Dioulasso

Nous remercions les Sages Femmes des deux maternités de Bobo Dioulasso pour leur coopération.

A l'examen microscopique de 215 placentas de novembre à mars, on a observé 6,5 % d'infection par *Plasmodium falciparum*.

Les parasitémiés placentaires se rencontrent surtout après la saison des pluies, période de forte transmission

---> en novembre et décembre, sur 51 placentas, 12 % sont infectés.

---> en mars, aucune infection n'est trouvée

Par ailleurs, les plus fortes parasitémiés se rencontrent pendant la même période :

---> en novembre, les placentas présentent une parasitémie érythrocytaire (% de globules rouges parasités) moyenne de 22 %.

---> en janvier-Février, la parasitémie moyenne est de 0,75 %.

---> en mars, il n'y a pas de parasitémie.

Une seule espèce plasmodiale a été rencontrée dans les deux maternités de Bobo-Dioulasso : *Plasmodium falciparum*.

On sait que le cycle de développement de *Plasmodium falciparum* s'effectue dans les capillaires viscéraux, ici dans le sang des espaces inter-villositaires, tous les stades du développement de cet hématozoaire peuvent être observés : du trophozoite à la rosace.

Les érythrocytes parasites ont perdu leur pouvoir de déformation, et ils sont séquestrés dans les espaces inter-villositaires, on peut ainsi observer de très fortes parasitémiés érythrocytaires.

Ces parasitémiés placentaires s'observent parfois en l'absence d'une parasitémie détectable à l'examen du sang périphérique.

Dans 50 % des cas examinés on a trouvé un frottis positif chez la mère.

Ces parasitémies placentaires ne sont pas sans effets sur le développement *in utero* de l'enfant.

---> le poids à la naissance est environ 300 à 500 grammes plus bas chez les enfants nés d'une mère ayant une infection placentaire.

poids moyen à la naissance : > sans infection placentaire : 3 015 g.

> avec infection placentaire : 2 720 g

poids moyen à la naissance : > sans infection placentaire : 3 111,5 g

> avec infection placentaire : 2 905 g.

poids moyen à la naissance : > sans infection placentaire : 2 918,5 g.

> avec infection placentaire : 2 476,5 g.

D'autre part, nous observons une plus grande fréquence des prématurés .

---> pour un échantillon de 14 placentas infectés, nous avons deux prématurés,

---> pour un échantillon de 201 placentas non infectés, nous avons un prématuré,

Aucun examen de sang de cordon et de sang périphérique chez l'enfant n'a été positif en recherche d'hématozoaire. Le paludisme congénital est peu fréquent, même avec une infection placentaire avec parasitémie érythrocytaire importante. _

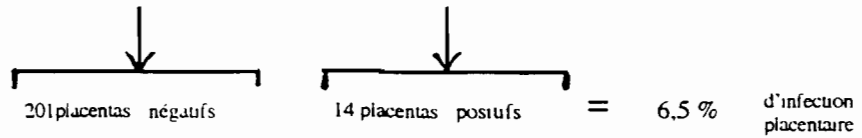
Cette étude va se poursuivre pendant toute la saison des pluies, en 1983, pour évaluer l'incidence des parasitémies placentaires en période de transmission maximale du paludisme.

Ces examens de sang de placenta dans les maternités nous ont amené à étudier le sang de cordon des nouveau-nés; en particulier, pour y dépister les hémoglobinopathies qualitatives : en Afrique noire c'est la drépanocytose, ou les hémoglobinopathies quantitatives, avec trouble de la biosynthèse des chaînes : ce sont les thalassémies.

Nos résultats sont en cours d'analyses, 72 échantillons de sang de cordon ont été examinés par électrofocalisation sur gel d'acrylamide avec gradient de PH (4,5 - 9,5).

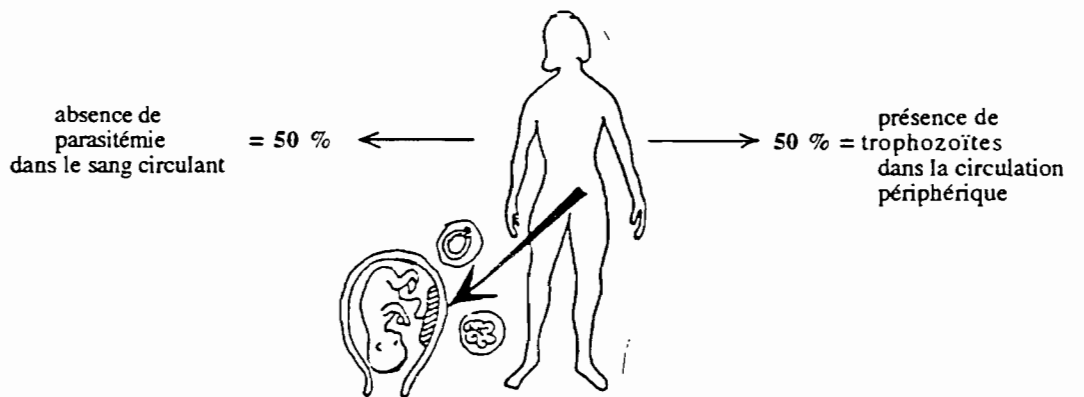
GROSSESSE ET INFECTION PLACENTAIRE

215 placentas



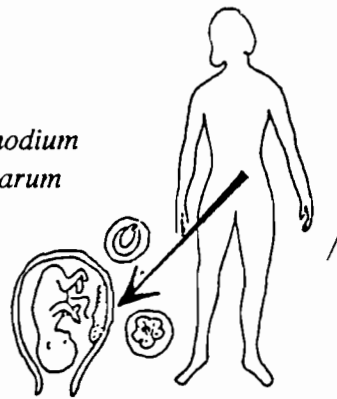
<u>NOVEMBRE</u> (saison des pluies)	<u>DECEMBRE</u>	<u>JANVIER</u>	<u>FEVRIER</u>	<u>MARS</u> (saison sèche)
27 % (3+ & 11 -)	9 % (3+ & 34 -)	7 % (6+ & 86 -)	4,5 % (2+ & 44 -)	0
13 % % de placentas infectés		6,7 % % de placentas infectés		0
22 % % de g.b. rges parasités		0,75 % % de g.b. rges parasités		0

<u>NOVEMBRE</u> (saison des pluies)	<u>DECEMBRE</u>	<u>JANVIER</u>	<u>FEVRIER</u>	<u>MARS</u> (saison sèche)
FORTES CHARGES PARASITAIRES		FAIBLES CHARGES PARASITAIRES		INFECTION NULLE

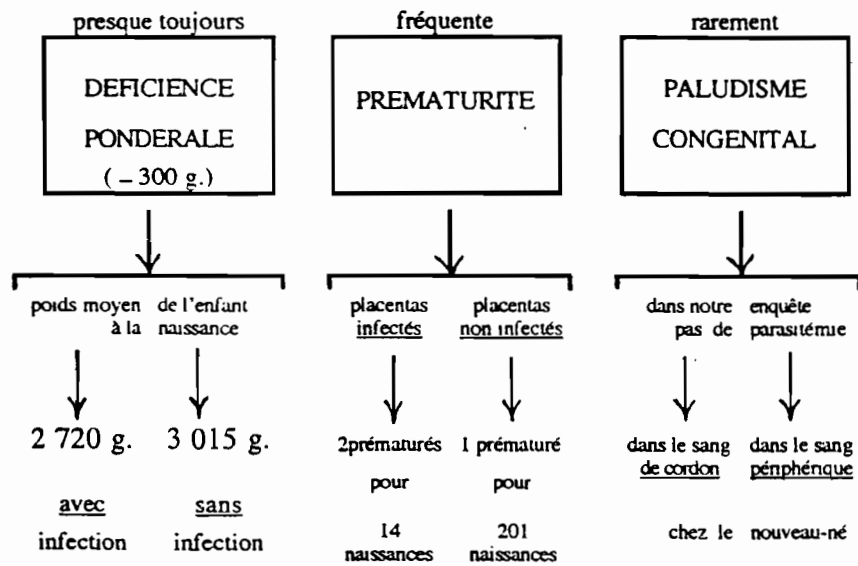


Plasmodium falciparum

Plasmodium falciparum



infection placentaire

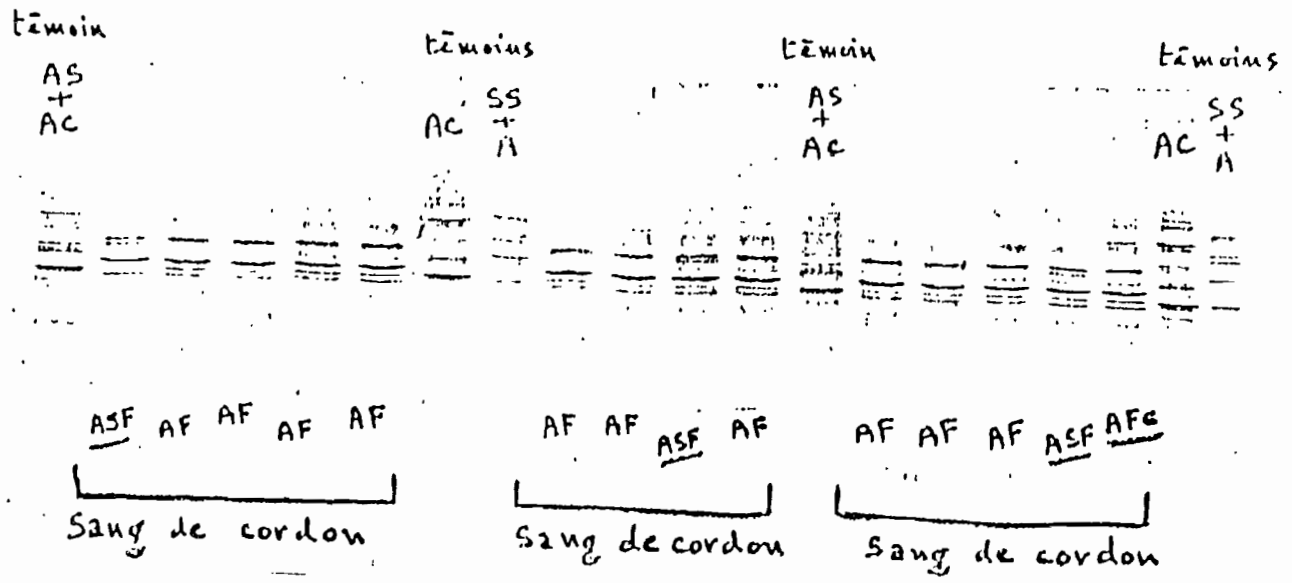


ELECTROPHORESE DE L'HEMOGLOBINE

EN GEL D'ACRYLAMIDE

("ELECTROFOCUSING")

AVEC GRADIENT DE PH (4.5 - 9.5)



POIDS DE NAISSANCE, INFECTION PALUSTRE PLACENTAIRE ET DÉFICIT PONDÉRAL SAISONNIER À BOBO-DIOULASSO (BURKINA FASO)

J.-F. Molez¹, M.-F. Bossenno¹ et S.-G. Traoré²

1. Antenne ORSTOM au près du Centre Muraz/OCCGE, 01 B.P. 171, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

2. Service de Maternité Obstétrique, Hôpital Sourou Sanou, 01 B.P. 676, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

Correspondance : Laboratoire Orstom de Paludologie, Centre ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal

1 INTRODUCTION

La proportion de nouveaux-nés de poids insuffisant a été retenue par l'OMS, à la 34^e Assemblée Mondiale de la Santé, comme l'un des indicateurs de l'état d'avancement des stratégies de santé dans les pays du tiers monde. L'insuffisance pondérale à la naissance a été définie comme correspondant à un poids inférieur à 2500 g, en considérant deux catégories de poids de naissance : "normal" quand il est à plus de 2 500 g, et "faible" quand il est à moins de 2500 g.

2 LE DÉFICIT PONDÉRAL DU NOUVEAU-NÉ

2.1. Les causes du déficit pondéral à la naissance

De nombreux facteurs peuvent être à l'origine d'un déficit pondéral, et influer sur le poids du nouveau-né à la naissance¹, ce sont :

des facteurs génétiques :

- le sexe du nouveau-né,
- l'origine ethnique,
- le poids et la taille maternels,

des facteurs obstétricaux :

- le terme (prématurité),
- la gemellarité,
- par naissance avant terme, pouvant être induits par le jeune âge maternel, (surtout si la mère a moins de 20 ans, il devient stable chez la mère de 25/30 ans),
- les naissances trop rapprochées, (surtout multiparité chez des mères jeunes),
- une pathologie favorisée ou associée à la grossesse (hypertension, albumine, glycosurie),
- des facteurs d'environnement,
- les anémies (son incidence diminue à mesure que la parité s'élève),
- les conditions socio-économiques (déficit alimentaire, travail aux champs),
- les infections intra-utérines (paludisme ou autre pathologie infectieuse).

2.2. Infection palustre placentaire et croissance fœtale

On sait qu'en cas de parasitémie placentaire à *Plasmodium*, on peut observer un déficit pondéral chez le nouveau-né, avec un poids de naissance qui sera inférieur à 2500 g, conséquence d'un retard de croissance intra-utérin^{2,3,4}.

L'infection placentaire palustre est indirectement responsable du déficit pondéral retrouvé chez le nouveau-né à la naissance, cette parasitémie se développe particulièrement dans les espaces intervillositaires, provoquant d'importantes perturbations circulatoires génératrices d'hypoxie fœtale ayant des effets néfastes sur la croissance intra-utérine^{5,6,7}. C'est surtout lorsque le placenta est très fortement parasité, avec diminution de l'hémodynamique placentaire, que l'on aura des répercussions sur le développement fœtal, avec comme

1 INTRODUCTION

The proportion of low birthweight newborn infants has been accepted by the WHO at the 34th World Health Assembly, as being one of the indicators for health strategy advancement in Third World countries. Low birthweight has been defined as being a weight below 2,500 g when two categories of birthweight are taken into account: "normal" when it is more than 2,500g and "poor" when it is less than 2,500g.

2. LOW BIRTHWEIGHT IN THE NEWBORN

2.1. The causes of low birthweight

Numerous factors can be the cause of low weight and influence the weight of the infant at birth¹, these are:

genetic factors:

- the sex of the newborn infant,
- the ethnic origin,
- the maternal weight and height,

obstetric factors:

- gestation (prematurity)
- multiple pregnancy
- preterm birth, possibly resulting from a young maternal age, (especially if the mother is under 20 years of age; it stabilises in the mother of 25/30 years),
- too frequent births, (especially multiparity in young mothers),
- pathology induced by or associated with pregnancy (hypertension, albumin, glycosuria),
- environmental factors,
- anaemia (its incidence falls as parity increases),
- socio-economic conditions (deficient diet, farm labouring),
- intrauterine infection (malaria or other infectious pathology).

2.2. Placental malarial infection and foetal growth

It is known that low birth weight occurs in the newborn in the case of placental parasitaemia due to *Plasmodium*, with a birthweight below 2,500 g, due to an intrauterine growth deficiency^{2,3,4}.

Placental malarial infection is indirectly responsible for the weight deficit found in infants at birth, this parasitaemia developing mainly in the intervillous spaces, resulting in the significant circulatory disorder of foetal hypoxia with damaging effects on intrauterine growth^{5,6,7}. It is particularly when the placenta becomes heavily parasitised, with a reduction in placental haemodynamics, that repercussions are observed on foetal development, with the following consequences at different times during pregnancy:

- infection during the 1st trimester = foetal death in utero and abortion

² infection during the 2nd trimester = premature labour

- infection during the third trimester = low birthweight
- Placental infection by erythrocytic *Plasmodium* is not a

conséquences à différents moments de la grossesse :

- infection du 1^{er} trimestre = mort foetale in utero et avortement,
- infection du 2^e trimestre = accouchement prématuré,
- infection du 3^e trimestre = déficit pondéral du nouveau-né.

L'infection placentaire par l'hématozoaire *Plasmodium* n'est pas un fait rare en Afrique noire^{8,9}, où la transmission du paludisme est toujours importante, et on sait que les jeunes pères premières et les secondes gestes sont plus souvent exposées à développer une infection palustre placentaire^{7,8,10}. Cependant cette classe de jeunes parturiantes est celle qui présente classiquement le plus souvent des avortements, des prématurés (gestation raccourcie) ou des déficits pondéraux (croissance ralentie). Ces premières et secondes gestes sont en obstétrique des sujets donnant plus souvent des petits poids de naissance que les multipares (le poids augmente jusqu'à la 7^e ou 9^e parité).

Par ailleurs l'anémie et la carence en fer, souvent retrouvées chez les femmes enceintes, interviennent dans l'étiologie de l'hypotrophie foetale, une chute de 2 % de l'hématocrite entraîne une baisse de poids du nouveau-né de 100 g^{11,12,13}, aussi chez les premières gestes et secondes gestes, qui sont des femmes à risque en obstétrique, la responsabilité de la parasitémie placentaire à *P. falciparum* dans le déficit pondéral du nouveau-né reste difficile à évaluer.

3 MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1. Les enquêtes

Différentes enquêtes sur le couple mère enfant ont été effectuées dans la ville de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), par l'Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz/OCCGE entre 1983 et 1985^{9,10,15}.

Un examen clinique est effectué en maternité (fiche d'enquête mère/nouveau-né) pour connaître à l'interrogatoire l'histoire de la grossesse, rechercher des épisodes fébriles et d'éventuels traitements palustres. Au moment de la délivrance, on examine la vitalité du nouveau-né, on note son poids de naissance ; on examine également l'aspect du placenta et la couleur du liquide amniotique.

Un examen parasitologique est effectué sur le placenta au moment de la délivrance en réalisant une apposition sur lame d'une coupe du placenta. Après coloration au Giemsa, on recherche en microscopie la présence d'hématozoaires dans le sang des espaces intervillousitaires présent sur cette empreinte placentaire.

3.2. Les maternités

Différentes enquêtes concernant l'infection palustre placentaire ont concerné les deux seules maternités de la ville de Bobo-Dioulasso :

- de novembre 1982 à novembre 1983 : 860 placentas ont été examinés :
 - Maternité de l'Hôpital de Souru Sanou (examen clinique et parasitologique),
 - Maternité Municipale O Guimbi (examen parasitologique seul),

- de novembre 1984 à novembre 1985 : étude longitudinale de 77 naissances issues d'un placenta impaludé, avec suivi parasitologique mère et nouveau-né.

Pour déterminer le poids de naissance moyen du nouveau-né à Bobo-Dioulasso, à partir d'un échantillonnage de 329 nouveaux-nés (des deux sexes, avec un placenta sain, indemne de toute infection) à la Maternité de l'Hôpital Souru Sanou. Cette recherche du poids moyen de naissance a été complétée à partir des poids

rare occurrence in Black Africa^{8,9} where malarial transmission is always considerable; it is known that the mothers of first and second born infants are more often at risk of developing a placental malarial infection^{7,8,10}. However this group of young mothers is that which most often presents with abortion, premature delivery (reduced gestational period) or with a low birthweight infant (deficient growth). These first and second deliveries are those which, in obstetrics, often give rise to lower birthweight newborn infants than from multiparous women (weight increases up to the 7th or 9th parity).

Moreover, anaemia and iron deficiency, often present in pregnancy, play a role in the aetiology of foetal hypotrophy, a 2% reduction in the haematocrit leading to a reduction in weight in the newborn of 100 g^{11,12,13}. Furthermore, in mothers of first and second born infants who are most at risk obstetrically, the role of placental parasitaemia due to *P. falciparum* is difficult to evaluate in relation to low birthweight.

3 MATERIAL AND METHODS

3.1. Surveys

Various surveys on the mother and child have been carried out in the town of Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), by ORSTOM Broadcasting at the Muraz/OCCGE Centre between 1983 and 1985^{9,10,15}.

Clinical examination is carried out in the Maternity Department (mother/newborn record form) to obtain information on the history of the pregnancy, to look for febrile episodes and for any malarial treatment administered. At the time of delivery, the newborn is examined for responsiveness and birthweight is recorded; the appearance of the placenta is also recorded along with the colour of the amniotic fluid.

Parasitological examination of the placenta is also carried out at the time of delivery by taking a smear from a section of placenta. After staining with Giemsa, the presence of haematozoites on microscopy are sought after in the intervillous blood present in this placental sample.

3.2. Maternal units

Various surveys involving placental malarial infection have involved the two maternity units of Bobo-Dioulasso:

- from November 1982 to November 1983: 860 placentas were examined:
 - Souru Hospital Maternity Unit (clinical and parasitology examination),
 - Municipal maternity Unit O Guimbi (parasitology examination alone),
- from November 1984 to November 1985: longitudinal study of 77 births with malaria infected placenta, with parasitological follow-up of the mother and newborn infant.

To determine the mean birthweight of newborn infants at Bobo-Dioulasso from a sample of 329 newborns (both sexes, with a healthy placenta, free of all infection) at the Souru Sanou Maternity Hospital. This study of mean birthweight was taken from the birthweights shown in the register of this Maternity Unit over the preceding 18 month period.

4 BIRTHWEIGHT DEFICIT AT BOBO-DIOULASSO

4.1. Mean birthweight

The mean newborn birthweight for both sexes at the Maternity Unit of the Souru Sanou Hospital, Bobo-

de naissance relevés sur les registres de cette Maternité sur les 18 mois précédents.

4 DÉFICIT PONDÉRAL DU NOUVEAU-NÉ À BOBO-DIOULASSO

4.1. Poids de naissance moyen

Le poids de naissance moyen du nouveau-né, les deux sexes confondus, trouvé au niveau de la Maternité de l'Hôpital Sourou Sanou de Bobo-Dioulasso est de 2 892 g (\pm 023 g). Il est de 2 819 g (\pm 334 g) pour les garçons et de 2 767 g (\pm 206 g) pour les filles.

Ce poids moyen de naissance est dans les limites de ce qui est observé dans différents autres pays africains^{5, 6}, c'est-à-dire situé entre 2 800 g et 3 100 g pour les nouveaux-nés d'Afrique noire inter-tropicale.

La fréquence générale des petits poids de naissance (poids < 2 500 g), au niveau de la Maternité de Bobo-Dioulasso, est de 16 % les deux sexes confondus. Elle est de 11,6 % chez les garçons et de 20,6 % chez les filles, mais le sexe féminin présente toujours classiquement un poids moyen de naissance inférieur à celui des garçons.

4.2. L'infection palustre placentaire

Concernant l'enquête ayant porté sur 860 placentas^{14, 5}, on a trouvé 9,76 % d'infections palustres placentaires (moyenne annuelle), seul l'hématozoaire *P. falciparum* a été retrouvé comme responsable de ces infections placentaires à Bobo-Dioulasso.

Dioulasso is 2,892 g (\pm 023 g)¹. For boys, the mean weight is 2,819 g (\pm 334 g.) and for girls, 2,767 g (\pm 206 g).

This mean birthweight is within the limits seen in other African countries^{5, 6}, i.e. between 2,800 g and 3,100 g for newborn infants born in tropical Black Africa.

The incidence of low birthweight (weight < 2,500 g) in the Maternity Unit of Bobo-Dioulasso is 16% for both sexes. It is 11.6% for boys and 20.6% for girls, but girls invariably have a mean birthweight lower than that of boys.

4.2. PLACENTAL MALARIAL INFECTION

With regard to the study of 860 placentas^{14, 15}, 9.76% were found to be infected with malaria (annual mean) all of which were due to *P. falciparum* at Bobo-Dioulasso.

A mean birthweight of 2,835 g (\pm 255 g) was recorded for the 77 newborn infants with parasitised placentas at birth: 2,881 g (\pm 309 g) for boys and 2,788 g (\pm 212 g) for girls. No significant differences (by sex or combined) were found between these weights and the mean overall weights for Bobo-Dioulasso (cf. above).

On the other hand, in the Congo¹⁶, and in Gabon¹⁷, no clear-cut correlation between placental *P. falciparum* parasitaemia and weight deficit in newborn infants was found either. However, Congo and Gabon are intense and continuous malarial transmission zones, and the intervillous space parasitic load does not show any seasonal fluctuation¹⁸.

TABL. N° I

Poids moyen de naissance, saison et parasitemie placentaire

Mean weight at birth, season and placental parasitaemia

Période de la grossesse Period of pregnancy Moment de la naissance Time of birth Sexe / Effectif (77) Sex / Number (77)	grossesse en saison de forte transmission Pregnancy during the season of high transmission né en saison sèche (entre déc. et mai) born during the dry season (between Dec. and May) placentas parasités (effectif : 20) parasitised placentas (number: 20)	grossesse en saison de basse transmission Pregnancy during the season of low transmission né en saison des pluies (entre juin et nov.) born during the rainy season (between June and Nov.) placentas parasités (effectif : 57) parasitised placentas (number: 57)	Maternité Hôp. Gén. de Bobo-Dioulasso Gen. Maternity Hospital of Bobo-Dioulasso (données 1983-84) placentas sains (data 1983-84) healthy placentas Moyenne générale (329 naissances) Overall mean (329 births)
Nouveaux-nés / Newborn sexes confondus / both sexes	2 570 g (\pm 426)	2 918 g (\pm 193)	2 892 g. (\pm 023)
Nouveaux-nés / Newborn de sexe masculin / males	2 693 g (\pm 533)	2 952 g (\pm 221)	2 819 g. (\pm 334)
Nouveaux-nés / Newborn de sexe féminin / girls	2 343 g (\pm 202)	2 884 g (\pm 168)	2 767 g. (\pm 206)

TABL. N° II

Fréquence du déficit pondéral, parasitemie placentaire et saison (fréquence des petites poids de naissance inférieur à 2 500 g)

Incidence of low birthweight, placental parasitaemia and season (Frequency of low birthweight less than 2,500 g)

Période de la grossesse Period of pregnancy Moment de la naissance Time of birth Sexe / Effectif (77) Sex / Number (77)	grossesse en saison de forte transmission Pregnancy during the season of high transmission né en saison sèche (entre déc. et mai) born during the dry season (between Dec. and May) placentas parasités (effectif : 20) parasitised placentas (number: 20)	grossesse en saison de basse transmission Pregnancy during the season of low transmission né en saison des pluies (entre juin et nov.) born during the rainy season (between June and Nov.) placentas parasités (effectif : 57) parasitised placentas (number: 57)	Maternité Hôp. Gén. de Bobo-Dioulasso Gen. Maternity Hospital of Bobo-Dioulasso (données 1983-84) Fréquence générale (data 1983-84) Healthy placentas Placentas sains (329 naissances) Overall mean (329 births)
Nouveaux-nés / Newborn sexes confondus / both sexes	41 %	17 %	16 %
Nouveaux-nés / Newborn de sexe masculin / males	23,7 %	20,7 %	11,6 %
Nouveaux-nés / Newborn de sexe féminin / girls	20,7 %	14,3 %	20,6 %

Au sujet du suivi des 77 nouveaux-nés issus de placentas parasités, on a trouvé pour le nouveau-né un poids moyen de naissance qui est de 2835 g (\pm 255 g). Il est de 2881 g (\pm 309 g) pour les garçons et 2788 g (\pm 212 g) pour les filles. On n'observe pas de différence significative (sexes confondus ou non), avec le poids de naissance moyen normalement retrouvé à Bobo-Dioulasso (cf. supra).

D'autre part il faut observer qu'au Congo¹⁶, et au Gabon¹⁷, on n'a également pas trouvé de corrélation évidente entre la parasitémie placentaire à *P. falciparum* et le déficit pondéral observé chez les nouveaux-nés. Cependant au Congo et au Gabon, nous sommes en zone de transmission palustre intense, mais surtout permanente, et les densités parasitaires dans les espaces intervillositaires ne présentent pas de fluctuations saisonnières¹⁸.

Par contre à Bobo-Dioulasso, l'endémie palustre qui prévaut dans cette région du sud du Burkina Faso présente une variation saisonnière du taux de transmission qui est abaissé en saison sèche¹⁹. C'est ainsi que les accès palustres vont présenter des variations saisonnières de fréquence en fonction de la saison des pluies, et il en sera de même des infections palustres placentaires et surtout des fortes charges parasitaires dans les espaces intervillositaires. C'est ainsi que l'on a pu observer¹⁴ une variation saisonnière des infections palustres placentaires (de 24,5 % en fin de saison des pluies à 1 % en fin de saison sèche), et des densités parasitaires (jusqu'à 70 % des érythrocytes en fin de saison des pluies), dans les espaces intervillositaires.

ANALYSE ET DISCUSSION

1. Infection placentaire et déficit pondéral saisonnier

Il est tant donné que ce sont les fortes charges parasitaires dans les espaces intervillositaires qui ont des effets néfastes sur la croissance foetale, nous allons découper nos observations sur les petits poids de naissance en deux périodes, tenant compte de la dynamique de la transmission palustre.

Cette approche nous permet de trouver une relation de cause à effet entre l'infection palustre placentaire et le déficit pondéral à la naissance (tableaux I et II). Il est de moins de 300 g les deux sexes confondus, et plus précisément de moins de 120 g chez les garçons à moins de 20 g chez les filles. On remarque chez ces dernières une incidence particulière du déficit pondéral, les fait entrer plus rapidement dans la catégorie des moins de 2 500 g.

Enfin les déficits pondéraux chez les enfants issus de placentas parasités par *Plasmodium falciparum* s'observent surtout chez les nouveaux-nés qui naissent en saison sèche, c'est-à-dire ceux dont la maturité foetale est située en période de forte transmission palustre (saison pluvieuse). Par contre, les enfants qui naissent en saison des pluies d'un placenta parasité (la grossesse est effectuée en saison sèche, période de transmission minimum), ne présentent pas de différence pondérale significative vis-à-vis du poids moyen du nouveau-né avec placenta sain.

2. L'infection placentaire responsable du déficit pondéral

En rapport aux autres facteurs pouvant influencer sur le déficit pondéral, la responsabilité de l'infection palustre placentaire dans les petits poids de naissance, peut être mise en évidence en examinant les taux d'anticorps antipalustres.

Pendant les mois de novembre à janvier, tranche saisonnière des déficits pondéraux, on a réalisé une étude sérologique de 29 couples mère-enfant sur des nais-

On the other hand, in Bobo-Dioulasso, the malarial endemic which prevails in this region to the south of Burkina Faso, has a seasonal variation in the level of transmission which falls during the dry season¹⁹. As a result, bouts of malaria will present with a seasonal variation of frequency depending upon the rainy season, and this will be the same for placental malarial infections and particularly for the heavy parasitic load in placental intervillous spaces. In this way, we were able to observe a seasonal variation in placental malarial infections (from 24.5% at the end of the rainy season to 1% at the end of the dry season), and parasitic densities (up to 70% of erythrocytes at the end of the rainy season) in intervillous spaces.

5 ANALYSIS AND DISCUSSION

5.1. Placental infection and seasonal low birthweight

Given that it is the heavy parasitic load within the intervillous spaces which is responsible for the negative effects on foetal growth, we will divide our low birthweight observations into two time periods to take into account the dynamics of malarial transmission.

This approach will enable us to establish a cause and effect relationship between the placental malarial infection and reduced weight at birth (TABLES 1 and 2). For both sexes, it is at least 300 g or to be more precise, at least 120 g for boys and at least 420 g for girls. In the latter group, there is a particularly noticeable weight deficiency leading to a greater presence in the under 2,500 g group.

Weight deficit in children therefore linked to placentas parasitised by *Plasmodium falciparum* is particularly prevalent in infants born during the dry season, i.e. in those in whom foetal maturity takes place during the period of significant malarial transmission (the rainy season). On the other hand, infants born during the rainy season with a parasitised placenta (the pregnancy advancing during the dry season with a minimum of transmission) do not have significant weight differences compared to the mean weight of the newborn with a healthy placenta.

5.2. Placental infection responsible for low birthweight

Besides other factors capable of influencing birthweight, the effect of placental malarial infection can be demonstrated by examining the level of antimalarial antibodies.

During the months of November to January, the low birthweight seasonal period, a serological study was carried out involving 29 mother and child pairs with a history of parasitised placentas. The heavier the para-

Poids de naissance avec infection palustre placentaire Birthweight following placental malarial infection	Moyenne des TGM chez le nouveau-né G.M.L. mean in the newborn	Moyenne des TGM chez la mère Mean of the G.M.L. in the mother
Nouveaux-nés Poids > 2 500 g (effectif 20) Newborn Weight > 2,500 g (number 20)	200	700
Nouveaux-nés Poids < 2 500 g (effectif 7) Newborn Weight < 2,500 g (number 7)	600	1 240
Nouveaux-nés décédés(*) Poids < 2 500 g (effectif 2) Stillborn* Weight < 2,500 g (number 2)	(non prélevés) (no sampled)	3 110

TABL. N° III

Déficit pondéral, infection placentaire et sérologie palustre

(T.G.M. des AC antipalustres en I.F.I. et poids de naissance avec infection à *P. falciparum* pour les mois de naissance en période de déficit pondéral (Nov., Déc., Janv., Févr.)

Weight deficit, placental infection and malarial serology (G.M.L. of antimalarial ACs in I.F.I. and birthweight following infection with *P. falciparum* for the month of birth and period of weight deficit (Nov., Dec., Jan., Feb.)

REFERENCES

1. Olivier C., Badoual J., Paillerets F. Interpretation d'une hypotrophie du nourrisson. *Rev du Prat*, 1978 ; 28 (23) : 1729-1747.

2. Cannon D.S.H. Malaria and prematurity in the western region of Nigeria. *British Medical Journal*, 1958 ; IV : 877-878.

3. Anthonioz Ph., Correa P., Lauroy J., Bah M.D. Association paludisme et grossesse : données fournies par l'examen de 607 placentas. *Dakar Médical*, 1979 ; 24 (1) : 103-111.

4. Jeliffe E.F.P. Low birthweight and malarial infection of the placenta. *Bull. Wrd Hlth Drg*, 1968 ; 33 : 69-78.

5. Reinhart M.C. Effects of parasitic infections in pregnant women. *Ciba Found Symp*, 1980 ; 77 : 33 : 69-78

6. Mac Gregor I.G., Wilson M.E., Billiwick W.Z. Malaria infection of placentae in Gambia, West Africa : its incidence and relationship to stillbirth, birthweight and placental weight. *Trans of Trop Med Hyg*, 1983 ; 77 : 232-244.

7. Bray R.S. Anderson M.J. Falciparum malaria and pregnancy. *Trans of Roy Soc Trop Med Hyg*, 1979 ; 73 : 427-431.

8. Brabin B.J. An analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bull WHO*, 1983 ; 66 : 1005-1016.

9. Molez J-F., Bosseno M-F., Traore S-G., Guenhou O., Carnevale P. Infection placentaire itérative à *Plasmodium falciparum* au cours de deux grossesses successives. *Bull Soc Path exot*, 1989 ; 82 (3) : 373-380.

10. Molez J-F., Zei M.P., Carnevale P., Traore S-G., Bosseno M-F., Guenhou O., Sanou S., Akinocho Y. Nécessité en P.M.I. de "cibler" en priorité les jeunes primigestes ou seconde geste pour un meilleur contrôle du paludisme chez la femme

sances avec des placentas parasités par l'hématozoaire. Plus les densités parasitaires des espaces intervillositaires seront fortes, plus l'infection palustre aura des effets néfastes (petit poids < 2 500 g, souffrance foetale, parfois mort à la naissance), induisant un taux géométrique moyen (TGM) des AC antipalustres décelés en IFI (TABLEAU 3), d'autant plus élevé chez la parturiente et son nouveau-né.

Ces taux d'AC sont à rapporter à l'intensité de la réaction macrophagique qui peut être observée dans les espaces intervillositaires, cette activité est d'autant plus importante que le parasitisme est intense. Les retards de croissance intra-utérine et les déficits pondéraux sont la conséquence des fortes charges parasitaires dans les espaces inter-villositaires du placenta.

6. CONCLUSION

A Bobo-Dioulasso, en zone soudanienne du Burkina Faso, en tenant compte de la dynamique de la transmission palustre, il existe un rapport saisonnier de cause à effet entre l'infection placentaire à *P falciparum* et le déficit pondéral du nouveau-né. Par rapport aux zones d'endémie palustre permanente (où existe parfois un taux de transmission très élevé), les effets néfastes des parasitémies placentaires seront d'autant plus apparents qu'il existe une variation du taux de transmission, alors qu'en zone de transmission palustre intense et continue (Congo, Gabon), l'infestation palustre placentaire, bien qu'elle ait des répercussions pondérales sur le foetus, ne semble pas être un problème majeur. Ainsi, la répercussion de l'infestation palustre placentaire, telle que l'augmentation du déficit pondéral à la naissance, apparaîtra d'autant plus que l'on sera en zone d'endémie palustre présentant une variation du taux de transmission.

En zone d'impaludation en Afrique noire, les jeunes primipares et secondes pares sont particulièrement concernées par l'infection palustre placentaire à *Plasmodium falciparum*, cependant la responsabilité de cette infection palustre dans les petits poids de naissance doit être pondérée, l'infection palustre n'est qu'un facteur supplémentaire dans ce groupe à risque obstétrical. L'OMS et l'UNICEF donnent de plus en plus d'importance à l'amélioration des taux de mortalité infantile dans les pays du tiers-monde, aussi ces jeunes parturiantes doivent faire l'objet d'une attention particulière au niveau des consultations prénatales dans les Centres de Protection Maternelle et Infantile.

Remerciements : ce travail a bénéficié d'une subvention du ministère de l'Industrie et de la Recherche, Commission Santé et Développement N° B 56 63 L 1222

enceinte. XXIV^e Conf Techn de l'OCCG, avril 1985, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

11. Renaud R. Paludisme et grossesse. *Med Afr Noire*, 1980 ; 27 (10) : 791-794.

12. Gilles H.M., Lawson J.B., Sibelas M., Voller A., Allan N. Malaria, Anaemia and Pregnancy. *Am Trop Med Parasit*, 1969 ; 63 : 245-263.

13. Jilly P. Anaemia in parturient women, with special reference to malarial infection of the placenta. *Ann Trop Med Parasitol*, 1969 ;

63 : 109-116.

14. Molez J-F., Carnevale P., Traore S-G., Sanou J.-M., Bazie A.-J., Diagne M. Données sur l'association paludisme et grossesse fournies par l'examen de 215 placentas dans deux maternités de Bobo-Dioulasso. XXIII^e Conf Techn de l'OCCGE, 11-15 avril 1983, Ouagadougou, Burkina Faso.

15. Molez J-F., Bosseno M-F., Traore S-G., Carnevale P., Gazin P. Infection placentaire et paludisme urbain à

stitic load in the intervillous spaces, the greater the unwanted effects due to malarial infection (low weight < 2,500 g, foetal distress, occasional death at birth), inducing a geometric mean level (GML) of antimalarial ACs revealed on IFP (TABLE 3) which is all the more so immediately after birth in both the mother and child.

These AC levels are related to the intensity of the macrophage response which can be seen in the intervillous spaces, this activity being more marked as parasitaemia develops. Intrauterine growth retardation and reduction in weight are the result of the heavy parasite load in the intervillous spaces of the placenta.

6 CONCLUSION

At Bobo-Dioulasso, in the soudanian zone of Burkina Faso, there is a seasonal cause and effect relationship between *P falciparum* placental infection and low birthweight in the newborn, when the dynamics of malarial transmission are taken into account. In comparison with endemic continuous malarial zones (where a very high transmission rate exists), the harmful effects of placental parasitaemias are all the more apparent as there is a variation in the level of transmission, whilst in intense and continuous malarial transmission zones (Congo, Gabon), placental malarial infestation, even though it has repercussions on the weight of the foetus, does not seem to be a major problem. Thus, the impact of placental malarial infestation, such as the increase in birthweight deficit, will be that much greater in endemic malarial zones with a seasonal variation in the level of transmission.

In Black African malarial regions, young prima and multigravidas are particularly affected by *Plasmodium falciparum* placental malarial infection. However, the relationship of this malarial infection to low birthweight must be weighted - malarial infection being only a supplementary factor in this obstetric risk group. The WHO and UNICEF are giving more and more importance to improvement in the level of infant mortality in the Third World and these young mothers must be given special attention during prenatal consultations in Mother and Baby Centres.

Acknowledgements: this work has benefitted from a grant from The Ministry of Industry and Research, Health and Development Commission N° B 56 63 L 1222

Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Cahiers de Santé*, 1992 ; 2 : 176-179.

16. Carnevale P., Bosseno M-F., Pangui E., Molez J-F., Frezil J-L., Richard-Lenoble D. Observations parasitologiques sur le paludisme congénital à l'Hôpital Militaire de Brazzaville, Rep Pop du Congo, *Cah ORSTOM, sér Ent méd et Parasitol*, 1985 ; 23 (2) : 87-94.

17. Walter P., Garin J-F., Blot Ph., Philippe E. Placenta et paludisme. Etude morphologique et clinique. *J Gyn Obst Biol*

Repr, 1981 ; 10 : 535-542.

18. Walter P. Paludisme et pathologie placentaire. *Etudes médicales*, 1987 ; 3 : 163-168.

19. Robert V., Gazin P., Boudin C., Molez J-F., Quedraogo V., Carnevale P. La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone de rizicole des environs de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Ann Soc Belge Méd Trop*, 1985 ; 65 (suppl 2) : 201-214.

INFECTION DU PLACENTA PAR LES *PLASMODIUM* EN ZONE D'ENDÉMIE

Les facteurs de risque

Par P. GAZIN (*), M. P. COMPAORÉ (**), Y. HUTIN (***) & J. F. MOLEZ (*) (****)

Placental infections by *Plasmodium* in an endemic area. The risk factors.

Summary: A survey has been carried out during eight months in the hospital of Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) in view to observe the infection of the placentas by *Plasmodium* and their risk factors. One thousand forty pregnant women were included. Infection rates were 6.5 % during the low transmission season and 24.5 % during the high transmission season. *P. falciparum* was present in all the infections. Thirty eight per cent of the women under 18 years old and 26 % of the primigravidae were infected. The mean difference in birth weights between the newborn babies of primigravidae with infected or non-infected placentas was 275 g. The regular visits to antenatal clinics, a high level of education and sufficient income were linked with a low level of placental infection. The use of bed nets was linked with a low level of placental infections even after suppression of the other socio-economic data. These observations are discussed in view of an action against malaria in endemic areas.

Résumé : L'infestation des placentas par les *Plasmodium* a été étudiée pendant huit mois en 1991 chez 1 040 parturientes à l'hôpital de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Le taux d'infestation était de 6,5 % en période de faible transmission et de 24,5 % en période de forte transmission. *P. falciparum* était présent dans toutes les infestations. 38 % des parturientes de moins de 18 ans et 26 % des primipares étaient infestées. Les nouveau-nés de primipares infestées pesaient en moyenne 275 g de moins que ceux de primipares non infestées. Le suivi régulier des consultations prénatales, l'appartenance à un bon niveau socio-économique sont apparus des facteurs associés à un taux d'infestation bas. L'emploi de moustiquaires de lit est lié à une protection contre l'infection placentaire même après élimination des facteurs socio-économiques confondants.

L'infection placentaire par les hématozoaires, spécialement par *Plasmodium falciparum*, est une notion classique en zone d'endémie, particulièrement en Afrique au Sud du Sahara (5, 7). Dans une étude menée pendant huit mois à l'hôpital de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), nous nous sommes attachés à mettre en évidence les facteurs comportementaux ou thérapeutiques pouvant avoir une influence sur la présence de *Plasmodium* dans les placentas.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'enquête a été menée de mars à octobre 1991 auprès des femmes venant accoucher à la maternité

de l'hôpital Souro Sanou à Bobo-Dioulasso, deuxième ville du Burkina Faso, peuplée alors d'environ 320 000 habitants.

Les grossesses gémellaires et les naissances par césarienne ont été exclues pour des raisons d'organisation matérielle. Les femmes incluses dans l'enquête étaient les femmes accouchant par voie basse présentes à la maternité lors du passage des enquêteurs. Pour chacune d'elles, une apposition du placenta sur lame de verre était pratiquée peu après la délivrance. Après fixation et coloration, les hématozoaires étaient recherchés en microscopie optique par l'examen de 30 champs au grossissement 50. Chaque accouchée incluse dans l'étude a été interrogée dans sa langue de pratique courante (dioula, moré ou français) sur son âge, ses antécédents obstétricaux, le déroulement de la grossesse en insistant particulièrement sur le suivi des consultations prénatales et sur l'usage d'une chimioprophylaxie antipalustre par les amino-4-quinol

(*) Orstom/Centre Muraz, BP 171, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

(**) Hôpital Souro Sanou, Bobo-Dioulasso.

(***) SESIS/OCCGE, Bobo-Dioulasso

(****) Manuscrit n° 1445. Accepté le 7 avril 1994

léines, ses caractéristiques socio-économiques (lieu de résidence, type d'habitat, niveau d'instruction, activité professionnelle). Les caractéristiques socio-économiques ont été cotées de 1 à 5 afin d'établir un score. Une attention particulière a été portée aux moyens de protection individuelle contre les moustiques. Chaque nouveau-né a été examiné, son poids, sa taille, son état clinique à la naissance notés.

Les données ont été analysées avec le logiciel Epi-info. Les tests statistiques ont été les tests paramétriques de comparaison de moyenne et de pourcentage, ainsi que les tests de Fisher et de Kruskal-Wallis de comparaison de pourcentages et de moyennes. Le seuil de signification a été fixé à 0,05. Les facteurs confondants ont été recherchés en analyse bivariée en utilisant une stratification. Les facteurs de risque ont ensuite été introduits dans un modèle de régression logistique en utilisant le logiciel EGRET.

RÉSULTATS

Pendant la durée de l'étude, 2 408 accouchements non gémellaires ont été pratiqués à la maternité de l'hôpital Sourou Sanou. Notre étude a porté sur 1 040 observations, soit 43 % des accouchements.

Infestation palustre placentaire

Le nombre de placentas infestés par des hématozoaires a été de 176, soit 16,9 % des placentas examinés. Les différents stades parasitaires ont été observés dans les hématies présentes dans les espaces intervillositaires ainsi que cela est classiquement décrit (8). *P. falciparum* était présent dans toutes les infections. *P. malariae* a été observé deux fois, en association avec *P. falciparum*. De mars à mai, pendant la saison sèche, période de faible transmission palustre (6), le pourcentage de placentas parasités était de 6,5 % (29/441). A partir de juin, début de la saison des pluies et de la période de transmission intense, ce pourcentage a nettement augmenté, passant à 24,5 % (147/599), différence significative avec le trimestre précédent ($p < 0,0001$) sans qu'il ait existé de tendance à une variation marquée d'un mois à l'autre durant cette dernière période.

Les parturientes ont été regroupées par classes d'âge : âge inférieur à 18 ans, âge compris entre 18 et 25 ans, âge compris entre 26 et 35 ans, âge supérieur à 35 ans (tableau I). L'infestation placentaire était d'autant plus fréquente que les parturientes étaient jeunes, étant de 38 % chez les plus jeunes, puis de 18, 11 et 5 % (différences significatives, test global, $p < 0,0001$).

Les parturientes ont été regroupées en primipares, paucipares pour les 2^e et 3^e pares et multipares (tableau II). Le pourcentage d'infestation placentaire était fortement lié à la parité, étant de 26 % chez les primipares, de 16 % chez les paucipares et de 9 %

chez les multipares (différences significatives, test global, $p < 0,0001$).

Tab. I. — Évolution de l'infestation palustre placentaire selon l'âge des parturientes à Bobo-Dioulasso en 1991.

Age en années	< 18	18 à 25	26 à 35	> 35
Placenta non parasité	71	409	308	76
Placenta parasité	43	92	37	4

Tab. II. — Évolution de l'infestation palustre placentaire selon la parité à Bobo-Dioulasso en 1991.

Placenta	Primipares	Paucipares	Multipares
- non parasité	264	278	322
- parasité	93	53	30

L'usage d'insecticides intradomiciliaires non rémanents, pyréthrinoides en aérosols ou sous forme de tortillons de combustion lente, était fréquent. 66 % des parturientes ont dit en employer régulièrement. Cet usage n'était pas associé à une protection contre l'infection placentaire (16 % contre 19 %, différence non significative). Par contre, parmi les 109 femmes disant dormir habituellement sous moustiquaire (non imprégnées d'insecticide), le taux d'infection placentaire était de 7 %, nettement plus bas que celui de 18 % chez les autres parturientes (différence significative, $p < 0,01$).

Trente pour cent des parturientes habitaient un quartier central de la ville de Bobo-Dioulasso, 61 % un quartier périphérique et 9 % en milieu rural ou dans de petites agglomérations. Leurs taux d'infestation placentaire étaient respectivement de 13, 18 et 24 % (différences significatives, test global, $p < 0,03$).

La pratique d'une chimioprophylaxie par la chloroquine au cours de la grossesse était fréquent : 77 % des femmes ont dit en avoir effectué une plus ou moins régulièrement. Il n'est pas apparu de liaison entre cette pratique, quelle que soit la date de début de la prophylaxie, et le taux d'infestation placentaire : 20 % chez les femmes sans prophylaxie, 16 % chez celles avec prophylaxie, différence non significative. Le pourcentage d'infestation était de 23 % chez les femmes n'ayant suivi aucune consultation prénatale, de 20 % chez celles qui avaient suivi une ou deux consultations (différence non significative) et de 14 % chez celles qui avaient suivi trois consultations ou plus (différence significative avec le groupe précédent, $p < 0,02$) (tableau III). Ce n'est donc que chez les femmes qui se sont régulièrement rendues à des consultations prénatales qu'une relation avec l'infestation placentaire a été observée.

A partir du score basé sur le type d'habitat et son équipement, le niveau d'instruction et la profession, les parturientes ont été regroupées en niveaux socio-

Tab. III — Suivi des consultations prénatales (CPN) et infestation palustre placentaire à Bobo-Dioulasso en 1991.

Placenta	Pas de CPN	1 ou 2 CPN	3 CPN ou +
- non parasité	39	318	507
- parasité	12	80	84

économiques mauvais, médiocre, moyen et bon (tableau IV). Le pourcentage d'infestation placentaire était fortement lié à ces niveaux, étant de 24 % dans le niveau mauvais, de 17 % dans le niveau médiocre, de 14 % dans le niveau moyen et de 5 % dans le niveau bon (différences significatives, test global, $p < 0,001$)

Tab. IV — Niveau socio-économique et infestation palustre placentaire à Bobo-Dioulasso en 1991.

Niveau socio-économique	Mauvais	Médiocre	Moyen	Bon
Placenta non parasité	161	425	198	80
Placenta parasité	51	90	31	4

L'association observée entre l'usage de moustiquaire de lit et l'absence de parasitisme placentaire était partiellement due à un effet confondant, le niveau socio-économique. Après ajustement pour ce critère, le risque relatif de parasitisme placentaire chez les utilisatrices de moustiquaire était de 0,52 (IC à 95 % : 0,27-1,64, $p = 0,07$). Selon l'analyse multivariée (tableau V), les facteurs de risque qui contribuaient au modèle de façon significative étaient l'âge, la parité, le type d'environnement et le niveau socio-économique.

Les nouveau-nés

Le nombre total de naissances prématurées, définies par une durée de gestation inférieure à 9 mois selon l'anamnèse, a été de 60, soit 6 % de l'effectif étudié. Le pourcentage de prématurés chez les enfants nés de placentas parasités a été de 8 %, et de 5 % chez les autres (différence non significative). Il y a eu 8 morts-nés, tous issus de placentas non parasités (différence non significative, test exact de Fisher, $p = 0,36$). Les enfants nés de primipares avec placentas parasités avaient un poids moyen inférieur de 275 g à celui des enfants nés de primipares non parasités (différence significative, $p < 0,001$) et une taille moyenne inférieure de 7 mm (différence significative, $p < 0,001$). Ces différences s'atténuèrent chez les paucipares et étaient inexistantes chez les multipares (tableau VI).

DISCUSSION

Notre étude a concerné moins de la moitié des femmes ayant accouché à la maternité de l'hôpital

de Bobo-Dioulasso pendant la période de référence. Il n'y a en principe pas eu de sélection des sujets, les cas étudiés étant ceux présents au moment du passage des enquêteurs. Il n'est cependant pas possible d'affirmer qu'il s'agit d'un échantillon représentatif de la population hospitalière, des biais involontaires et inconscients ayant pu exister. Une étude menée en 1989 dans le même hôpital avait mis en évidence un taux de mortinatalité de 74 % (3). Le taux très bas que nous rapportons, 8 %, peut en partie s'expliquer par l'exclusion de notre étude des naissances en milieu chirurgical. Il est cependant certain qu'une partie des accouchements avec mort-né n'a pas été rapportée dans notre étude, probablement parce que l'interrogatoire de la mère dans ces circonstances est plus difficile. Il n'est donc pas possible de tirer de conclusion à partir de notre travail sur les relations entre mortinatalité et infection palustre placentaire.

Tab. V. — Facteurs de risque de l'infestation palustre placentaire à Bobo-Dioulasso en 1991 (analyse multivariée).

Catégories d'exposition	Rapport brut des cotes	Rapport ajusté des cotes	I. C. 95%	Valeur de p.
Age :				
<= 25 ans	1	-	-	-
> 25 ans	0,28	0,49	0,29-0,81	<0,005
Parité :				
primipare	1	-	-	-
2 - 3	0,50	0,64	0,42-1,00	0,051
4 - 5	0,32	0,39	0,22-0,68	<0,001
> 5	0,19	0,21	0,11-0,42	<0,001
Résidence :				
urbain	1	-	-	-
semi-urbain	1,44	1,52	1,01-2,28	0,045
rural	2,13	1,83	0,95-3,50	0,69
Scores socio-économiques :				
de 5 à 9	1	-	-	-
de 10 à 14	0,64	0,66	0,39-1,10	0,12
de 15 à 19	0,47	0,46	0,26-0,82	0,009
>= 20	0,14	0,16	0,06-0,44	<0,001

Tab. VI. — Poids en gramme et taille en centimètre des nouveau-nés et infestation palustre placentaire à Bobo-Dioulasso en 1991.

Placenta	Primipares	Paucipares	Multipares
- sain	P 2884	3042	3099
	T 48,1	48,9	48,9
- parasité	P 2608	2997	3073
	T 47,4	48,5	49,2

P : poids ; T : taille

Dans une étude menée en 1987 dans la même région, 19 % des parturientes ne prenant pas de chimioprophylaxie présentaient une infestation placentaire.

taire, taux remarquablement proche de celui de la présente enquête (1). Dans cette même étude, seulement 4 % des femmes pratiquant régulièrement une chimioprophylaxie présentaient une infestation palustre, taux très différent de celui de 16 % que nous avons observé. Cette différence peut être due en partie à une diminution d'efficacité de la chloroquine, tout à fait réelle dans la région (2), mais elle peut également être due à la différence de méthodologie. Dans l'étude de 1987, les femmes étaient régulièrement suivies et la prise médicamenteuse contrôlée. Dans notre étude, il n'y a pas eu de contrôle du dire des parturientes et il existe certainement de nombreux cas où l'affirmation d'un emploi régulier de la chimioprophylaxie ne correspond pas à la réalité.

L'intérêt de ce travail tient dans la mise en évidence de facteurs pouvant avoir une influence sur la prévalence de l'infestation palustre placentaire. L'emploi d'insecticide domestique n'a pas d'effet. De même, la pratique d'une prophylaxie plus ou moins régulière par les quinoléines et le suivi occasionnel de la grossesse dans un centre de soins n'ont pas d'effet. Seules les gestantes motivées, celles qui ont été à au moins trois consultations, se distinguent par un taux d'infestation plus bas. Par contre, l'usage de moustiquaire de lit est nettement associé à une protection. Après ajustement pour le niveau socio-économique, l'usage de moustiquaire est encore associé à une diminution de moitié du risque d'infestation palustre placentaire. La faiblesse de la signification statistique ($p = 0,07$) est à rapprocher du nombre limité d'utilisatrices de moustiquaires, seulement 10 % des gestantes.

La meilleure protection contre le paludisme apparaît être l'accès à un niveau de vie décent et à l'instruction. Les facteurs protecteurs mis en évidence se retrouvent dans cette approche : ce sont les femmes instruites et ayant des moyens financiers qui utilisent des moustiquaires, vont régulièrement aux consultations prénatales, emploient correctement une prophylaxie.

Ces observations sont importantes pour répondre à la question fondamentale en paludologie : que faire pour limiter les conséquences morbides du paludisme là où un arrêt définitif de la transmission ne peut pas être obtenu ? L'évolution de la situation du paludisme en Afrique du Sud du Sahara dépend d'une modification des comportements humains. Les armes pour limiter les effets du paludisme existent. La lutte contre le paludisme passe aujourd'hui en grande partie par l'école et le développement économique.

BIBLIOGRAPHIE

1. COT (M.), ROISIN (A.), BARRO (D.), YADA (A.), VERHAVE (J. P.), CARNEVALE (P.) & BREART (G.). — Effect of chloroquine chemoprophylaxis during pregnancy on birth weight: results of a randomized trial. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1992, 46, 21-27.
2. DEL NERO (L.), LAMIZANA (L.), PIETRA (V.) & ROTIGLIANO (G.). — A national survey of the prevalence of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* in Burkina Faso. *J. Trop. Med. Hyg.*, 1993, 96, 186-190.
3. MÉDA (N.), TRAORÉ (G.), MÉDA (H.) & CURTIS (V.). — La mortalité en milieu hospitalier au Burkina Faso. *Cahiers Santé*, 1992, 2, 45-48.
5. MACGREGOR (I. A.), WILSON (M. E.) & BILIEWICZ (W. Z.). — Malaria infection of the placenta in the Gambia, West Africa; its incidence and relationship to stillbirth, birthweight and placental weight. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1983, 77, 232-244.
6. ROBERT (V.), GAZIN (P.) & CARNEVALE (P.). — Malaria transmission in three sites surrounding the area of Bobo-Dioulasso (Burkina Faso): the savanna, a rice-field and the city. *Bull. Soc. Vectors Ecol.*, 1987, 12, 541-543.
7. TESTA (J.), AWODABON (J.), LAGARDE (N.), OLIVIER (T.) & DELMONT (J.). — Indices plasmodiques et placentopathies palustres chez 229 parturientes centrafricaines. *Méd. Afrique noire*, 1989, 36, 754-761.
8. YAMADA (M.), STEKETEE (R.), ABRAMOWSKY (C.), KIDA (M.), WIRIMA (J.), HEYMANN (D.), RABBEGE (J.), BREMAN (J.) & AIKAWA (M.). — *Plasmodium falciparum* associated placental pathology: a light and electron microscopic and immunohistologic study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1989, 41, 161-168.

Observations parasitologiques sur le paludisme congénital à l'Hôpital militaire de Brazzaville, R.P. du Congo

Pierre CARNEVALE⁽¹⁾, Marie-France BOSSENO⁽¹⁾
E. PANGUI⁽²⁾, Jean-François MOLEZ⁽¹⁾,
Jean-Louis FRÉZIL⁽¹⁾, Dominique RICHARD-LENOBLE⁽³⁾

Résumé

Une étude parasitologique du paludisme congénital a été réalisée sur un échantillon complet de 88 séries mères-enfants examinées à l'Hôpital militaire de Brazzaville (R.P. du Congo).

La chute de l'immunité due au stress physiologique de l'accouchement a été indiquée par l'augmentation de la prévalence plasmodiale qui intéresse 12,1 % des 99 femmes à la consultation prénatale (huitième mois) et 21,3 % des 89 parturiantes. L'examen de 88 placentas a montré la présence de *Plasmodium falciparum* chez 17 % d'entre eux et dans 11 des 88 prélèvements sanguins de cordon ombilical. L'existence d'un paludisme congénital a été confirmé par l'observation de *Plasmodium falciparum* au niveau du sang périphérique de deux des 88 nouveau-nés examinés à leur naissance. Tous les nourrissons ont ensuite été négatifs pendant les deux premiers mois, le premier cas de « paludisme anophélien » a été relevé chez un bébé de 60 jours.

Le poids des enfants de mères trouvées impaludées lors de la consultation prénatale du huitième mois a été légèrement, mais pas significativement, inférieur à celui des enfants des mères parasitologiquement négatives. L'influence probable de l'impaludation de la mère sur le développement in utero et la possibilité démontrée d'un paludisme congénital soulignent la nécessité d'une prophylaxie bien menée pendant la grossesse.

Mots-clés : Paludisme congénital — Hôpital — Brazzaville.

Summary

PARASITOLOGICAL OBSERVATIONS ON CONGENITAL MALARIA IN THE MILITARY HOSPITAL OF BRAZZAVILLE (P.R. OF CONGO). A parasitological investigation on congenital malaria was undertaken at the Military Hospital of Brazzaville, People's Republic of Congo. 88 series of blood smears from mothers — placenta — umbilical cords — newborn children were examined.

The increase of mothers' plasmodial prevalence, from 12,1 % at the eighth month of pregnancy to 21,3 % at the time of delivery, showed the decrease of immunity during pregnancy and parturition. All those women were symptomless carriers. *P. falciparum* was the predominant species but *P. ovale* and *P. malariae* were also observed. 17 % of placentas examined were infested by *P. falciparum* and 15 of them were heavily infested. 12,5 % of cord blood were also infested. One case of *P. malariae* and one of *P. ovale* were also observed in placenta, each one being associated with *P. falciparum*. Two cases

(1) Entomologistes médicaux et Parasitologues de l'ORSTOM, Centre ORSTOM de Brazzaville, B.P. 181, R.P. du Congo.

(2) Hôpital militaire de Brazzaville.

(3) C.H.U. Pitié-Salpêtrière, Paris

of congenital malaria were observed. They were displayed by the presence of few trophozoites of *P. falciparum* in the peripheral blood of newborns examined just few hours after birth. No fever or no other clinical symptom was noticed. Then, all the babies were negative during the first two months of their life, and the first "anophelian malaria" was observed in a 60 days old baby. The birth weight of babies from parasitized mothers was slightly but not significantly lower than the one of babies born from negative mothers.

These observations emphasized the need for a routine and an accurate chemoprophylactic treatment of mothers during pregnancy.

Key words : Congenital malaria — Hospital — Brazzaville.

Dès 1925 Blacklock et Gordon (1925 a et b) confirment l'existence d'un véritable paludisme congénital, transmis de la mère au fœtus « owing to the failure of the barrier action of placenta ».

Cette possibilité d'impaludation congénitale est corroborée par une série d'observations signalant la présence de *Plasmodium* dans le sang périphérique des enfants à leur naissance ainsi que dans le cerveau, le foie, la rate et le sang cardiaque du fœtus (Covell, 1950).

Les recherches relatives à l'infestation fœtale se sont effectuées aussi bien dans les régions non impaludées (Glorieux, 1952 ; Dimson, 1954 ; Jenkins, 1957 ; Mac Quay *et al.*, 1967) que dans les zones d'endémie palustre d'Amérique du Sud, d'Asie du S.E. et d'Afrique (Covell, *op. cit.*).

En Afrique sud-saharienne les très nombreux travaux consacrés au paludisme congénital ont été surtout réalisés en Afrique de l'Ouest et notamment au Nigeria (Bruce-Chwatt *et al.*, 1955 ; Cannon, 1958 ; Spitz, 1959 ; Gilles *et al.*, 1969), en Gambie (Wilson, 1972 ; Logie *et al.*, 1973 ; Bray et Sinden, 1979), au Sénégal (Bah, 1976 ; Anthonioz *et al.*, 1979 ; Galbraith *et al.*, 1980 a et b ; Walter, 1982) sans que cette liste soit exhaustive.

En Afrique centrale la majorité des travaux a été faite au Zaïre (Lombart, 1931 ; De Feyter, 1932 ; Schwetz et Peel, 1934 ; Peel et Van Hoof, 1948 ; Otchudiongo *et al.*, 1978). Par contre en R.P. du Congo aucune étude spécifique n'a été consacrée à ce sujet.

Le présent article s'inscrit dans le cadre d'une analyse générale des rapports hôte-parasite dans le cas du paludisme humain en zone d'endémie stable. Cette étude sera normalement complétée par l'examen des anticorps antipalustres materno-transmis et leur évolution au cours des premiers mois de vie de l'enfant (Sulzer *et al.*, en préparation).

1. Matériel et méthodes

L'étude du paludisme congénital a débuté en novembre 1975 au Service de Gynécologie de l'Hôpital militaire de Brazzaville ⁽¹⁾.

Un échantillon de 100 futures mères a été choisi (en fonction de leur volonté de coopération) au cours de la consultation prénatale du huitième mois. Nous avons pu connaître l'âge exact de 96 consultantess ; leur âge moyen a été de $24,2 \pm 5,7$ ans (minimum 15 ans ; maximum 46 ans). Les antécédents de grossesse ont pu être précisés pour 98 femmes ; en moyenne celles-ci en étaient à leur quatrième gestation (nombre moyen : $4,1 \pm 2,4$; minimum : première et maximum : treizième gestation).

Une prise de sang veineux au pli du coude a été faite lors de la consultation prénatale du huitième mois et au moment de l'accouchement. Le sang du cordon a été recueilli juste après qu'il ait été coupé et le placenta entier a été pris au moment de la délivrance.

Un frottis a été effectué au talon du nouveau-né dans les premières heures suivant sa venue au monde. Chaque semaine au cours du premier mois, puis chaque mois au cours de la première année, nous avons essayé de prélever de nouveau du sang sur ces enfants pour vérifier par des examens parasitologiques et immunologiques, leur éventuelle impaludation.

Les frottis réalisés à l'Hôpital militaire ont été colorés (Giemsa) et examinés au Service d'Entomologie médicale et Parasitologie du Centre ORSTOM de Brazzaville.

Le diagnostic de négativité parasitologique a été porté après l'examen de 100 champs de microscope (Orthoplan^R grand champ, objectif 100 x immersion, oculaire 10 x) qui permet une limite de décelabilité d'environ 200 parasites/mm³.

(1) Nous tenons à remercier vivement le Médecin-Commandant A. Mitsosa, Directeur de l'Hôpital militaire, de sa compréhension et de son aimable autorisation d'effectuer nos recherches au Service d'Obstétrique.

L'intensité des parasitémies observées a été classée en l'une des trois catégories arbitraires habituellement employées dans le Service :

- + = moins de 1 000 parasites/mm³ de sang
- ++ = 1 000 à 10 000 " " "
- +++ = plus de 10 000 " " "

Pour les placentas nous avons procédé à une série d'appositions à partir d'un petit morceau prélevé du côté maternel et légèrement absorbé sur un papier filtre. Ces appositions ont été colorées et observées selon le même protocole que les frottis.

2. Résultats et observations

2.1. PRÉVALENCE PLASMODIALE

Sur l'échantillon initialement prévu de 100 futures mères, 88 séries complètes « Mère — Placenta — Cordon — Enfant » ont pu être réalisées.

Des résultats constamment négatifs sont relevés dans 59 séries tandis que des frottis positifs (59 au total) sont relevés dans 29 séries (tabl. I).

Ces 59 infestations plasmodiales sont présentées isolément (tabl. II) pour préciser le lieu de l'infesta-

TABEAU I

Résultats des examens parasitologiques réalisés au Service d'Obstétrique de l'Hôpital militaire de Brazzaville (10^x : 10 femmes n'ont pas accouché à l'Hôpital, N : examen négatif ; CPN : consultation prénatale ; ACC^t : accouchement, PLC : placenta, CRD : cordon ombilical ; 1^o : enfant mort-né, P⁺ : présence de *Plasmodium*, J1 : nouveau-né à la naissance ; J15 : nourrisson de 15 jours, J30 : nourrisson d'un mois)

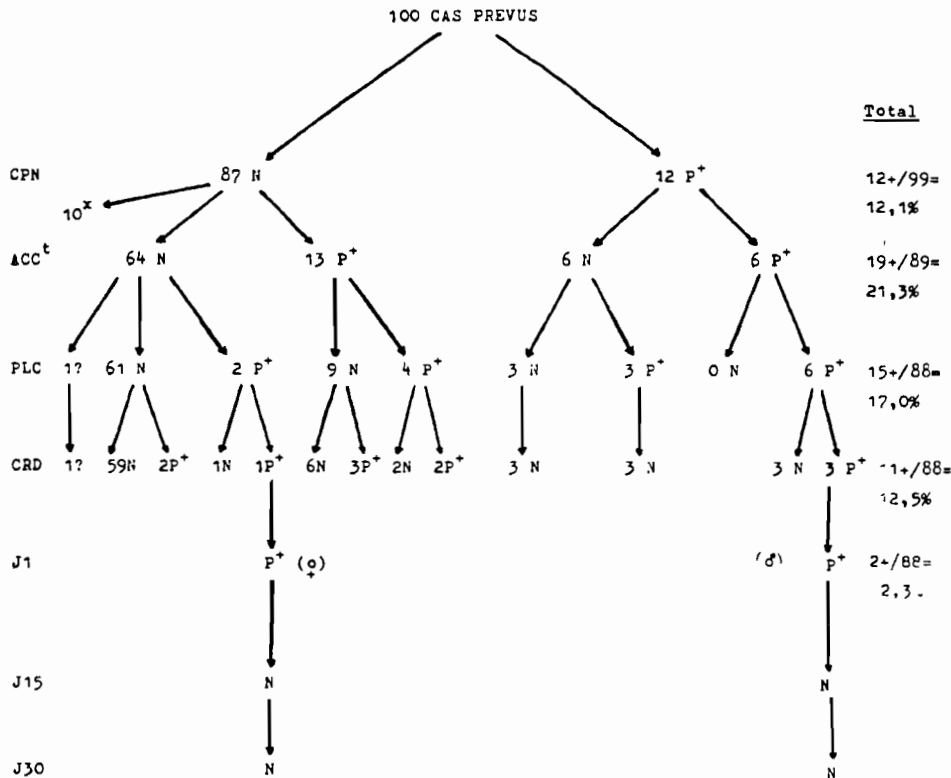


TABLEAU II

Les 59 infestations plasmodiales relevées au Service d'Obstétrique de l'Hôpital militaire de Brazzaville (Nvq : chimioprophylaxie déclarée être régulièrement suivie (plus ou moins fiable); CPN : consultation prénatale, ACC^c : accouchement, PLC : placenta, CRD : cordon ombilical, J1 à J30 : nouveau-né de 1 à 30 jours)

N° (et Nvq)	CPN	ACC ^c	PLC	CRD	J1	J8	J15	J22	J30
A1 (-)	F+	N	N	N	?	N	N	N	-
A5 (+)	F++	F+	F+	N	N	-	N	N	-
A6 (-)	N	N	N	F+	N	-	-	-	-
A8 (-)	N	F+	F+	F+	N	-	-	N	-
A9 (+)	F+M+	N	F+M+	N	N	-	-	N	-
A13(+)	N	N	F+	N	N	N	N	-	N
A16(+)	N	F+	N	N	N	N	-	-	N
A19(-)	N	F+	N	F+	N	-	-	-	N
B6 (+)	N	F+	N	F+	N	N	N	-	N
B16(+)	F+	N	F+++	N	N	-	N	N	-
C5 (-)	F+	N	N	N	N	-	-	-	-
C7 (-)	N	F+	N	N	N	N	N	-	-
C8 (-)	N	F+++	F+++	N	N	N	-	-	-
C10(-)	N	N	F+	F+	F+	N	N	-	N
C11(+)	N	F+	N	N	N	N	N	-	-
D1 (-)	N	N	N	F+	N	N	N	-	N
D4 (+)	F+++ M++	F+++ O++	F++ O++	N	-	N	-	-	N
D6 (-)	F+	N	F+	N	N	N	N	-	N
D11(-)	N	F+	N	N	N	-	-	-	-
D14(-)	N	F+++	F+++	F+	N	-	-	N	-
D17(+)	F+++	F+	F+	N	N	N	-	-	N
D20(-)	F+	F+	F+	F+	N	N	-	-	-
E1 (-)	N	F+	F+	N	N	-	-	N	-
E3 (+)	F+	N	N	N	N	-	N	-	N
E7 (+)	F+	F+	F+	F+	F+	-	-	-	-
E8 (+)	N	F+++	N	N	N	-	-	-	-
E13(+)	F+	F+	F+	F+	N	-	-	-	-
E16(-)	N	F+	N	N	N	-	N	-	N
E19(-)	N	F+	N	F+	N	-	N	-	N

tion observée : sang périphérique — placenta — cordon — nouveau-né.

L'examen du diagramme général regroupant l'ensemble des observations parasitologiques (tabl. I) montre que :

— au moment de la consultation prénatale du huitième mois, 12 futures mères sur les 99 (soit 12,1 %) présentent des hématozoaires décelables au niveau du sang périphérique ; dans dix cas il s'agit de *P. falciparum* seul, tandis que deux infections mixtes *P. falciparum* + *P. malariae* sont observées ;

— au moment de l'accouchement, 19 femmes sur les 89 examinées (soit 21,3 %) présentent une impaludation patente, due essentiellement à *P. falciparum* ; nous avons aussi noté une infection mixte avec *P. ovale*. Sur ces 19 cas positifs 6 viennent de femmes déjà positives lors de la consultation prénatale et 13 de femmes trouvées négatives un mois auparavant (tabl. I) ;

— l'examen des 88 placentas recueillis révèle la présence d'hématozoaires dans 15 d'entre eux (soit 17,0 %) ; *P. falciparum* est toujours présent sous

forme de trophozoïtes mais aussi de schizontes âgés ou de rosaces tandis que des gamétocytes ne sont vus qu'une seule fois ; deux infections mixtes de *P. falciparum* + *P. malariae* et *P. falciparum* + *P. ovale* sont aussi observées ; sur ces 15 placentas positifs, il faut remarquer (tabl. I) que :

- six proviennent de femmes positives lors de la consultation prénatale et au moment de l'accouchement, et quatre proviennent de parturiantes positives ; soit 10 placentas sur 15 proviennent de gestantes positives ;

- trois proviennent de parturiantes négatives mais qui étaient positives à la consultations prénatale, et deux seulement de femmes toujours négatives (l'une d'elles « A 13 » déclarant d'ailleurs se soumettre à une chimioprophylaxie régulière) ;

— l'examen des 88 cordons ombilicaux permet de noter la présence, exclusive, de *P. falciparum* dans 11 cas (soit 12,5 %). Il s'agit toujours de jeunes trophozoïtes ; ni schizontes ni gamétocytes ne sont vus dans les frottis de cordons ombilicaux. Ces 11 cordons infestés sont rattachés à des placentas positifs (six cas) ou négatifs (cinq cas) (tabl. I) mais dans deux cas seulement ils proviennent de mères chez lesquelles la présence d'hématozoaires n'a jamais pu être signalée (ces mères déclarant ne se soumettre à aucune chimioprophylaxie) ;

— les prélèvements sanguins effectués quelques instants après la naissance de l'enfant révèlent, à deux reprises, la présence de *P. falciparum* sous forme de jeunes trophozoïtes (soit 2,3 %). Pour ces deux cas de paludisme congénital il s'agit (tabl. I) :

- d'une fille de 3,300 kg ; le placenta et le cordon ombilical sont également infestés par *P. falciparum* ; la mère n'a pas de parasitémie patente ;

- d'un garçon de 3,820 kg dont la mère est positive lors de la consultation prénatale et lors de l'accouchement ; le placenta et le cordon sont aussi parasités.

Mais pour ces nouveau-nés, comme pour tous les autres nourrissons, tous les examens de contrôle effectués au cours du premier mois de vie sont négatifs.

Un frottis positif (*P. falciparum*) est obtenu d'une fille de deux mois (née d'une mère toujours négative) et il s'agit alors d'un « paludisme anophélien ».

Par ailleurs, de tous ces enfants nés de mères impaludées, un seul cas de prématuré (« A1 ») est relevé bien que l'interrogatoire de la mère rende le diagnostic douteux. Il s'agit d'un garçon de 2,340 kg

que nous avons pu suivre pendant sept mois et qui a toujours été négatif.

2.2 DENSITÉS PARASITAIRES

Sur 59 parasitémies décelées au cours de la présente enquête :

48 (81,4 %) peuvent être considérées comme faibles (< 1 000/mm³)

2 (3,4 %) peuvent être considérées comme moyennes (1 000 à 10 000/mm³)

9 (15 %) peuvent être considérées comme fortes (> 10 000/mm³)

L'examen des différentes parasitémies (tabl. III) montre qu'il y a légèrement plus d'infestations intenses chez les parturiantes (21,6 %) et dans les placentas (20,0 %) que chez les consultant (16,7 %) mais ces différences ne sont pas significatives.

Par contre toutes les parasitémies relevées dans les cordons et les nouveau-nés sont de faible intensité (avec toujours moins de 1 000 parasites par mm³ de sang).

TABLEAU III

Densités parasitaires observées lors des infestations à *P. falciparum* diagnostiquées chez les consultant et les parturiantes à l'Hôpital militaire de Brazzaville (CPN : consultation prénatale ; ACC^t : accouchement ; PLC : placenta ; CRD : cordon ombilical ; « J1 » : enfant à la naissance ; + = moins de 1 000 parasites/mm³ de sang ; ++ = 1 000 à 10 000 parasites/mm³ ; +++ = 10 000 à 100 000 parasites/mm³).

"Site"	Parasitémie		
	Nb (%)	Nb (%)	Nb (%)
CPN	9 (75,0)	1 (8,3)	2 (16,7)
ACC ^t	15 (78,9)	0	4 (21,1)
PLC	11 (73,3)	1 (6,7)	3 (20,0)
CRD	11	0	0
"J1"	2	0	0
TOTAL 59	48	2	9

2.3. POIDS DES NOUVEAU-NÉS

Le poids moyen des nouveau-nés est de 3,142 ± 0,351 kg. Le poids des garçons diffère significati-

vement de celui des filles, respectivement $3,244 \pm 0,348$ kg ($n = 41$) et $3,055 \pm 0,33$ kg ($n = 47$) ($p = 0,01$).

Nous avons relevé le poids des enfants de mères parasitologiquement négatives et de mères ayant présenté des hématozoaires dans le sang périphérique, le placenta ou le cordon ombilical, pour noter l'éventuelle influence de l'impaludation sur le poids des enfants à la naissance.

Après l'étude statistique⁽¹⁾ de la plupart des combinaisons possibles on peut distinguer trois catégories :

Mère	Nouveau-né		♂		♀	
	n	poids (kg)	n	poids (kg)	n	poids (kg)
Toujours négatives	24	$3,259 \pm 0,326$	35	$3,093 \pm 0,352$		
Positives en consultation prénatale	6	$3,037 \pm 0,536$	6	$2,840 \pm 0,162$		
Positives à l'accouchement	12	$3,262 \pm 0,365$	7	$2,990 \pm 0,247$		

Les mères trouvées positives lors des consultations prénatales du huitième mois (catégorie 2) ont des enfants de poids sensiblement inférieur aux autres enfants, et cela quel que soit le sexe ; mais du fait de la faiblesse des effectifs étudiés la différence n'apparaît pas significative.

Par contre la parasitémie de la mère, décelée lors de l'accouchement au niveau du sang périphérique, du placenta ou du cordon ombilical, ne semble pas être corrélée à un déficit pondéral du nouveau-né.

3. Discussion — Conclusion

La prévalence plasmodiale chez les consultantes et les parturiantes examinées à l'Hôpital militaire de Brazzaville ne doit pas être considérée comme représentative de la prévalence du paludisme dans l'agglomération brazzavilloise. Il s'agit en effet d'un échantillon bien particulier : femmes de militaires (donc de niveau social relativement élevé) régulièrement suivies au cours de la grossesse, venant ensuite au ser-

vice de la P.M.I. L'avantage d'un suivi possible de ces mères et des enfants compense le biais introduit dans le choix de cet échantillon qui permet une étude longitudinale.

P. falciparum est diagnostiqué chez 12,1 % des femmes examinées lors de la consultation prénatale (huitième mois). Cette valeur peut paraître faible mais elle n'est guère surprenante dans l'échantillon observé car plusieurs éléments interviennent, notamment :

— une chimiothérapie systématique, pendant la grossesse, des cas fébriles et une bonne information des femmes avec une chimioprophylaxie recommandée (bien que celle-ci ne soit, généralement, pas rigoureusement suivie), de sorte que la parasitémie peut être inférieure à notre seuil de décelabilité microscopique ($\approx 200/\text{mm}^3$) ;

— une transmission du paludisme urbain nettement moins intense que celle du paludisme rural.

La diminution bien connue de l'immunité au cours des derniers mois de gestation (Bruce-Chwatt, 1952, 1963 ; Taufa, 1978 ; Loke, 1982) est confirmée par la nette augmentation, chez les parturiantes, de la prévalence plasmodiale (21 % de femmes positives) et des charges parasitaires (une femme positive sur cinq présentant plus de 10 000 parasites par mm^3). Cette observation corrobore les travaux de Mac Gregor et Smith (1952), Gilles *et al.* (1969), Kortmann (1972), Bray et Anderson (1979).

Un placenta sur cinq environ est infecté par *P. falciparum* (à tous les stades de développement) et dans ce cas un sur cinq présente une infection intense. Cette prévalence plasmodiale placentaire élevée n'est pas étonnante puisqu'elle a été trouvée de l'ordre de 19,3 % au Sénégal (Anthonioz *et al.*, 1979), 15 % au Nigeria (Archibald, 1956), 16,1 % en Uganda (Jelliffe, 1968).

La présence de *Plasmodium* dans le placenta est connue depuis longtemps (Clark, 1915 ; Blacklock et Gordon, 1925 a ; Wislowki, 1930 ; Garnham, 1938) et a récemment fait l'objet de travaux nombreux et détaillés (Logie *et al.*, 1973 ; Bray et Sinden, 1979 ; Galbraith *et al.*, 1980 a et b). La concentration particulière en parasites que réalise le placenta est telle que Bray et Sinden (*op. cit.*) parlent de séquestration parasitaire. Sans entrer dans le détail des études histopathologiques fines de ces auteurs, ont peut signa-

(1) Nous tenons à remercier Monsieur J. Chaize, Statisticien au Centre Muraz, d'avoir bien voulu réaliser les analyses statistiques de nos dossiers

ler que les érythrocytes parasités par les schizontes ou les rosaces de *P. falciparum* seraient déformés, avec des « knob-like protrusions », de sorte que le diamètre des capillaires en sortie de circulation placentaire et les mouvements de contractibilité du placenta ne se prêteraient pas à la sortie de ces hématites infestées dans la circulation générale. Ceci expliquerait que comme Covell (1950), Anthonioz *et al.* (*op. cit.*), Galbraith *et al.* (*op. cit.*), Watkinson et Rushton (1983), nous avons obtenu des placentas fortement infestés à partir de femmes n'ayant pas de parasitémie patente au niveau du sang périphérique. De plus, du fait de ces irrégularités de surface, ou d'autres facteurs non encore élucidés, les érythrocytes parasités resteraient séquestrés dans les espaces intervillositaires (compartiment maternel) et ni Bray et Sinden (*op. cit.*), ni Galbraith *et al.* (1980 a), n'ont pu détecter de parasites intacts dans les villosités chorioniques (compartiment fœtal) même en présence d'une infection massive dans les chambres intervillieuses.

Anthonioz *et al.* (1979) ont observé des trophozoïtes libres dans le chorion des villosités et les cellules endothéliales des capillaires fœtaux ce qui suggère leur transit placentaire.

Quel que soit le mode de passage, actif ou traumatique, du *Plasmodium*, il apparaît que le paludisme congénital est un phénomène bien réel mais qui survient très rarement, même en zone d'endémie palustre (Covell, 1950 ; Bruce-Chwatt, 1957 ; O.M.S., 1968 ; Mac Gregor, 1983). En effet dans la présente étude, si une mère sur cinq présente de nombreux trophozoïtes de *P. falciparum* à l'accouchement, deux nouveau-nés (sur 88) seulement présentent quelques rares trophozoïtes avec aucun signe clinique particulier. En outre l'absence de parasitémie patente au cours des premières semaines de vie des nourrissons confirme l'intervention de plusieurs facteurs de protection : hémoglobine fœtale (Gilles, 1957 ; Omanga *et al.*, 1982), anticorps materno-transmis (Covell, 1950 ; Bruce-Chwatt, 1963 ; Mac Gregor, 1964 ; Desowitz, 1973 ; Logie *et al.*, 1973). Ce dernier pro-

blème a été envisagé et fera l'objet d'une communication ultérieure (Sulzer *et al.*, en préparation).

Enfin, et bien que tel n'ait pas été l'objet spécifique de la présente étude, nous avons aussi constaté que le poids des nouveau-nés paraît avoir été influencé par l'infestation plasmodiale de la mère au cours de la grossesse.

Il y a 60 ans, Blacklock et Gordon (1925 b) ont déjà fait état d'une réduction du poids du bébé naissant de mères impaludées. Depuis les études se sont multipliées (Bruce-Chwatt, 1952 ; Archibald, 1956, 1958 ; Cannon, 1958 ; Spitz, 1959 ; Jelliffe, 1968 ; Harrison, 1974 ; Mac Gregor et Avery, 1974 ; Reinhardt *et al.*, 1978) et ont montré que le poids moyen à la naissance des enfants nés de mères à placenta parasité pouvait être significativement inférieur à celui des enfants de mères non infectées. Le défaut d'oxygénation fœtale provoquerait un ralentissement de la croissance *in utero* à l'origine d'un déficit pondéral à la naissance. Ces nouveau-nés sont alors considérés comme des « prématurés » au vu de leur « petit poids » ($\leq 2,500$ kg) bien qu'ils puissent effectivement être nés à terme.

Pour notre part nous avons noté que le poids des enfants nés de mères trouvées impaludées lors de la consultation prénatale du huitième mois est légèrement, mais non significativement, inférieur à celui des enfants de mères apparemment non impaludées.

L'influence certaine du paludisme (s.l.) sur la grossesse et le fœtus (Tchakmakov, 1954 ; Archibald, 1956) associée à l'asymptomatisme habituel des adultes prémunis porteurs de nombreux hématozoaires, nous fait rejoindre les conclusions de Bruce-Chwatt (1957) sur la nécessité d'une prophylaxie chez les femmes enceintes vivant dans les régions d'endémie paludéenne. La posologie de cette chimioprophylaxie sera à déterminer en fonction des situations palustres considérées mais elle devra impérativement concerner les derniers mois de grossesse.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 23-5-1985

BIBLIOGRAPHIE

- ANTHONIOZ (P.), CORREA (P.), LAUROY (J.) et BAH (N. D.), 1979. — Association paludisme et grossesse : Données fournies par l'examen microscopique de 607 placentas *Dakar Médical*, 24, 1 : 103-111.
- ARCHIBALD (H. M.), 1956. — The influence of malarial infection of the placenta on the incidence of prematurity *Bull. Org. mond. Santé*, 15 : 842-845.
- ARCHIBALD (H. M.), 1958. — Influence of maternal malaria on newborn infants *Brit. Med. J.*, Dec. 20 : 1512-1514.

- BAH (M. D.), 1976. — Association paludisme et grossesse. Position actuelle et expérience dakaroise. Thèse Doct. Médecine, Dakar, n° 45.
- BLACKLOCK (B.) et GORDON (R. M.), 1925 a. — Malaria parasites in the placenta blood. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 19 : 37-54.
- BLACKLOCK (B.) et GORDON (R. M.), 1925 b. — Malaria infection as it occurs in late pregnancy : its relationship to labour and early infancy *Ann. trop. Med. Parasit.*, 19 : 327-365.

- BRAY (R. S.) et ANDERSON (M. J.), 1979 — *Falciparum* malaria and pregnancy *Trans R Soc trop Med Hyg*, 73 : 427-431
- BRAY (R. S.) et SINDEN (R. E.), 1979 — The sequestration of *Plasmodium falciparum* infected erythrocytes in the placenta *Trans R Soc trop Med Hyg*, 73, 6 : 716-719
- BRUCE-CHWATT (L. J.), 1952 — Malaria in African infants and children in Southern Nigeria *Ann trop Med Parasit*, 46 : 173-200.
- BRUCE-CHWATT (L. J.), 1957. — Congenital malaria *Brit Med J*, Aug. 3 : 764.
- BRUCE-CHWATT (L. J.), 1963. — Congenital transmission of immunity in malaria : 89-108, in *Immunity to Protozoa* (P. C. C. Garnham, A. E. Pierce et L. Boitt ed.), Blackwell, Oxford
- BRUCE-CHWATT (L. J.), ARCHIBALD (H. M.) et ELLIOTT (R.), 1955. — An experimental malaria control schema in Ilaro *Inf Bull. Malar. Serv., Dept. Med. Serv. Nigeria*, n° 3
- CANNON (D. S. H.), 1958. — Malaria and prematurity in the western region of Nigeria. *Brit Med J.*, Oct. 11 : 877-888
- CLARK (H. C.), 1915 — The diagnostic value of the placenta blood film in aestivo-autumnal malaria *J. Exp Med.*, 22 : 427-433.
- COVELL (C.), 1950. — Congenital Malaria. *Trop Dis Bull.*, 47, 12 : 1147-1167.
- DE FEYTER (C.), 1932 — Contribution à l'étude du paludisme congénital. *Ann. Soc belge Méd trop.*, 12 : 245-248
- DESOWITZ (R. S.), 1973. — Some factors influencing the induction, maintenance and degree of maternally transmitted protective immunity of malaria (*Plasmodium berghei*). *Trans. R Soc trop. Med Hyg.*, 67, 2 : 238-244.
- DIMSON (S. B.), 1954. — Congenital malaria in England. *Brit Med J.*, Nov. 6 : 1085.
- GALBRAITH (R. M.), FAULK (W. P.), GALBRAITH (C. M. P.), HOLBROOK (T. V.) et BRAY (R. S.), 1980 a. — The human materno-fœtal relationship in malaria. I. Identification of pigment and parasites in the placenta. *Trans. R. Soc. trop. Med Hyg.*, 74, 1 : 52-60.
- GALBRAITH (R. M.), FOX (H.), HEY (B.), GALBRAITH (C. M. P.), BRAY (R. S.) et FAULK (W. P.), 1980 b. — The human materno-fœtal relationship in malaria. II. Histological, ultrastructural and immunopathological studies of the placenta *Trans R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 74, 1 : 61-72.
- GARNHAM (P. C. C.), 1938. — The placenta in malaria with special reference to reticulo-endothelial immunity. *Trans R Soc trop Med. Hyg.*, 32 : 13-48.
- GILLES (H. M.), 1957 — The development of malarial infection in breast-fed gambian children. *Ann trop. Med. Parasit.*, 51 : 58-62.
- GILLES (H. M.), LAWSON (J. B.), SIBELAC (M.), VOLLER (A.) et ALLAN (N.), 1969 — Malaria, anaemia and pregnancy. *Ann. trop. Med Parasit.*, 63, 2 : 245-263.
- GLORIEUX (E.), 1952. — Un cas de malaria congénitale en Belgique. *Ann. Soc belge Méd. trop.*, 32 : 203-205.
- HARRISON (K. A.), 1974 — Malaria transmission and fetal growth. *Brit. Med J.*, Oct. 26 : 229.
- JELLIFFE (E. F. F.), 1968. — Low birth weight and malaria infection of the placenta. *Bull. Org. mond Santé*, 38 : 69-78
- JENKINS (H. G.), 1957. — Congenital malaria in England *Plasmodium ovale* *Brit. Med. J.*, Jan. 12 : 88-89
- KORTMANN (H. F.), 1972. — Malaria and pregnancy. M D Thesis. Utrecht, Drukkerij Elinkwijk.
- LOGIE (D. E.), MAC GREGOR (I. A.), ROWE (D. S.) et BILLEWICZ (W. Z.), 1973 — Plasma immunoglobulin Concentrations in mothers and newborn children with special reference to placenta malaria Studies in the Gambia, Nigeria and Switzzeland *Bull Org mond Santé*, 49 : 547-554.
- LOKE (Y. W.), 1982 — Transmission of parasites across the placenta : 155-228, in *Advances in Parasitology* (J. R. Baker et R. Muller ed.), Acad. Press, London.
- LOMBART (H.), 1931 — La malaria congénitale chez les Noirs d'Elisabethville. *Ann Soc. belge Méd trop*, 2 : 315-319.
- MAC GREGOR (I. A.), 1964 — Studies in the acquisition of immunity to *Plasmodium falciparum* infections in Africa *Trans R. Soc. trop. Med Hyg*, 58 : 80-92.
- MAC GREGOR (I. A.), 1983 — Current concepts concerning man's resistance to infection with malaria. *Bull. Soc Path exot*, 76 : 433-445.
- MAC GREGOR (I. A.) et SMITH (D. A.), 1952. — A health nutrition and parasitological survey in a rural village (Keneba) in West Kiang, the Gambia. *Trans. R. Soc trop Med Hyg*, 46 : 403-427.
- MAC GREGOR (J. D.) et AVERY (J. G.), 1974. — Malaria transmission and fetal growth. *Brit. Med J.*, Aug. 17 : 435-436.
- MAC QUAY (R. M.), SILBERMAN (S.), MUDRIK (S. P.) et KEITH (L. E.), 1967. — Congenital malaria in Chicago *Am J Trop. Med. Hyg.*, 16 : 258-266.
- OMANGA (U.), KAGERUKA (P.) et TSHISHIMBI (M.), 1982. — Immunité antipaludique materno-transmise et son évolution chez l'enfant. *Méd trop.*, 42 : 19-25.
- O.M.S., 1968 — Immunologie du Paludisme. Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS. Sér. Rapp. Techn., n° 396.
- OTCHUDIONGO (T. S.), MUBERUKA (M.), MUTAGE et LESZCZYNSKY 1978 — Problèmes posés par le paludisme en obstétrique. A propos de 145 observations de la maternité de l'Hôpital Sendwe, Lumumbashi, Zaïre. *Afr. Méd.*, 17, 162 : 497-502.
- PEEL (E.) et VAN HOOF (L.), 1948. — Paludisme à la maternité indigène de Léopoldville. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 28 : 413-420.
- REINHARDT (M. C.), AMBROISE-THOMAS (P.), CAVALLO-SERRA (R.), MEYLAN (C.) et GAUTIER (R.), 1978. — Malaria at delivery in Abidjan. *Helvetica Paed. Acta*, 33 (Supp. 41) : 65-84.
- SCHWETZ (J.) et PEEL (M.), 1935. — Congenital Malaria and placental infections among the negroes of Central Africa *Trans R. Soc trop Med Hyg.*, 28 : 167-174.
- SPITZ (A. J. W.), 1959. — Malaria infection of the placenta and its influence on the incidence of prematurity in Eastern Nigeria. *Bull. Org mond. Santé*, 21 : 242-244
- TAUFA (T.), 1978. — Malaria and pregnancy, Papua, New Guinea. *Med. J.*, 21 : 197-206.
- TCHAKMAKOV (A.), 1954 — Malaria as a cause of fetal death and premature births. *Acta Fac. Med Skapiensis, Skapze*, 1 : 55-62.
- WALTER (P.), 1982 — Paludisme et pathologie placentaire. Études Médicales, sept. 82, n° 3 : 163-168, Ed. Publ Pères Jésuites, Le Caire.
- WATKINSON (M.) et RUSHTON (D. I.), 1983. — Plasmodial pigmentation of placenta and outcome of pregnancy in West African mothers. *Brit Med J.*, Jul. 23 : 251-254.
- WILSON (N.), 1972. — Cannibalistic large mononuclears in a *P. falciparum* placenta from a primipara Gambian woman *Trans R. Soc trop Med Hyg.*, 66, 4 : 523
- WISLOWKI (G. B.), 1930 — Observations on the placenta from a case of malaria *Johns Hopkins Hospital Bull.*, 47 : 157-161.

Enzyme typing of *Plasmodium falciparum* from African and some other Old World countries

A. SANDERSON¹, D. WALLIKER¹

AND

J.-F. MOLEZ²

¹*Institute of Animal Genetics, West Mains Road, Edinburgh EH9 3JN, Scotland, UK*

²*Centre ORSTOM, B.P. 181, Brazzaville, Congo*

Summary

Freeze-dried and freshly cultured isolates of *Plasmodium falciparum* from different countries have been examined for variation in six enzymes, GPI, PGD, LDH, GDH, ADA and PEPE, using starch gel electrophoresis. Variant forms of each enzyme occur. For most enzymes, similar forms occur in isolates from different parts of the world, although differences in frequencies of each form are found. LDH-2 has been found only in African isolates. PEPE variants vary markedly in their frequency between East and West Africa, although further work is needed to confirm this finding.

Introduction

Enzyme electrophoresis has proved to be a valuable technique for identifying genetic differences between micro-organisms. In malaria the method has been applied most extensively to the parasites infecting rodents (CARTER, 1978). This work has shown that each of the four species of these parasites can be differentiated by their enzymes, and that distinct sub-species occur in different regions of Africa. Some enzyme work was carried out on freeze-dried samples of *Plasmodium falciparum* from The Gambia (CARTER & MCGREGOR, 1973) and Tanzania (CARTER & VOLLER, 1975) which suggested that in these two countries the organisms were genetically similar. This work was limited, however, because only four enzymes had proved suitable for electrophoresis work with malaria, and because it was difficult to obtain sufficient quantities of parasite material. In this and the following paper we report the results of a more extensive survey of enzyme variation in *P. falciparum* using more

enzymes than were previously available and examining isolates from a larger number of countries by making use of *in vitro* cultures of parasites.

Material and Methods

Sources and preparation of parasite samples

The parasite material was of two types, (a) freeze-dried blood or placental material and (b) fresh parasites from *in vitro* cultures.

(a) *Freeze-dried samples*: These were obtained from The Gambia, Tanzania and Congo (Brazzaville). Gambian isolates were obtained by Dr. R. Carter in 1973, and were of venous blood from 54 infected patients, which was cultured for 24 hours to produce trophozoites and schizonts. Tanzanian isolates, collected by Dr. Carter in 1975, were of placental blood from eight patients. Isolates from The Congo, collected by Dr. J.-F. Molez in 1979, were of placental blood from six patients. All samples were freeze-dried in their countries of origin before being sent to Edinburgh. They were stored under vacuum at -20°C until required for electrophoresis.

Gambian and Tanzanian isolates have been examined previously for variation in the enzymes GPI, PGD and LDH (CARTER & MCGREGOR, 1973; CARTER & VOLLER, 1975), and those from The Gambia additionally for GDH (CARTER & WALLIKER, 1977).

(b) *Cultured parasites*: 15 cultured parasite lines from ten countries have been kindly made available to us by workers in other laboratories (see Table II). Cultures of each line were sent to Edinburgh, either fresh or deep-frozen in liquid nitrogen.

Table I—Distribution of enzyme types in freeze-dried samples of *P. falciparum* from three African countries. The figure in each column represent the number of isolates exhibiting the enzyme forms shown

Origin	GPI			PGD			LDH			GDH			ADA			PEPE		
	1	2	1+2	1	2	3	1	2	1+2	1	2	1+3	1	2	1+2	1	2	3
Gambia	23	6	25	46	2	1	38	3	13	51	0	1	49	2	2	52	0	0
Tanzania	4	1	3	5	0	1	6	0	2	5	2	0	1	1	6	0	6	2
Congo	3	3	2	4	0	0	6	2	0	8	0	0	6	1	1	6	0	1

Table II—Distribution of enzyme types in 15 cultured isolates of *P. falciparum* + = presence of enzyme form. - = absence of enzyme form

Origin and Isolate No.	GPI			PGD			LDH			GDH			ADA			PEPE		
	1	2	1+2	1	2	3	1	2	1+2	1	2	1+3	1	2	1+2	1	2	3
Gambia FCR-3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Gambia R-FCR-3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Gambia FCR-4	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Gambia G1	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Gambia M17	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Senegal M13	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Ghana NF7	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
Zaire Z90	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	?	+
Tanzania NF56	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
E. Africa M19	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	?	+
Viet Nam FCR-1	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
China M21	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Indonesia NF58	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
Netherlands NF36	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Netherlands NF54	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-

Cultures FCR-1, FCR-3, RFCR-3 (chloroquine-resistant line derived from FCR-3) and FCR-4 were sent by Dr. W. Trager, Rockefeller University, New York, USA. Cultures G1 and Z90 were supplied by Dr. R. Carter, National Institutes of Health, Bethesda, USA. Cultures M13, M17, M19 and M21 were supplied by Dr. L. Perrin, University of Geneva, Switzerland. Cultures NF7, NF36, NF54, NF56 and NF58 were sent by J. H. E. Th. Meuwissen, Nijmegen, The Netherlands. NF7, NF56 and NF58 were isolated from patients in the Netherlands who had recently returned from tropical countries. NF36 and NF54 however were isolated from patients in the Netherlands who had never visited tropical countries.

On arrival they were established in continuous culture using the petri-dish method of TRAGER & JENSEN (1976).

For enzyme work parasites were freed from their host cells by saponin lysis and concentrated by centrifugation. Cultures exhibiting a parasitaemia of at least 5% were harvested from three petri-dishes (60 × 15 mm) and centrifuged at 500 *g* for 10 min. The supernatant was discarded and the packed red cells incubated with 0.15% saponin in complete RPMI 1640 medium (1.5 volumes saponin solution : 1 volume packed cells) at 37°C for 20 min. The material was then resuspended in ten volumes of complete RPMI medium and, after thorough mixing, centrifuged at 3,000 *g* for 10 min. The supernatant and red cell ghost layer were discarded, leaving a grey-brown pellet of packed parasites. Although some host-cell material remained, principally red cell membranes as well as unlysed red cells, this procedure was normally effective in removing nearly all host enzyme activity. The parasite material, which was sufficient for about ten electrophoreses, was either freeze-thawed and used immediately for enzyme work or stored in sealed glass capillaries under liquid nitrogen until required.

Enzyme electrophoresis

Six enzymes were studied using starch gel electrophoresis.

- (i) Glucose phosphate isomerase (GPI) (EC 5.3.1.9).
- (ii) 6-phosphogluconate dehydrogenase (PGD) (EC 1.1.1.44).

- (iii) Lactate dehydrogenase (LDH) (EC 1.1.1.27).
- (iv) NADP-dependent glutamate dehydrogenase (GDH) (EC 1.4.1.4).
- (v) Adenosine deaminase (ADA) (EC 3.5.4.4).
- (vi) Peptidase E (PEPE) (EC 3.4.11 or 13).

The preparation of starch gels and conditions of electrophoresis for GPI, LDH and GDH were carried out basically as described by CARTER (1978) using his methods (a) for GPI and LDH. PGD and ADA were studied using the methods of HARRIS & HOPKINSON (1976). For PGD the samples were placed in slots approximately half way up the gel rather than near the cathodal end. This was because an inactive area migrated up the gel after some hours of electrophoresis and sometimes overtook the parasite enzyme if samples were inserted too far back. When PGD was developing, frequent checks were made while the bands were developing because host superoxide dismutase which has a similar mobility to PGD-1, sometimes destained bands which were beginning to form.

PEPE was examined as in HARRIS & HOPKINSON (1976) with the following modifications. The electrode buffer for this enzyme was 0.225M Tris/0.22M sodium dihydrogen orthophosphate, pH 8.0. The gel buffer was a one in 20 dilution of the electrode buffer. Electrophoresis was carried out at 5 v/cm for 14 hours. The enzyme assay solution consisted of 25 ml 0.02M citrate phosphate buffer pH 5.5; 20 mg of the peptide substrate (either phenylalanyl-glycyl-phenylalanyl-glycine or leucine nitroanilide); 6 mg snake venom amino-acid oxidase (Sigma Chemical Co. Ltd.

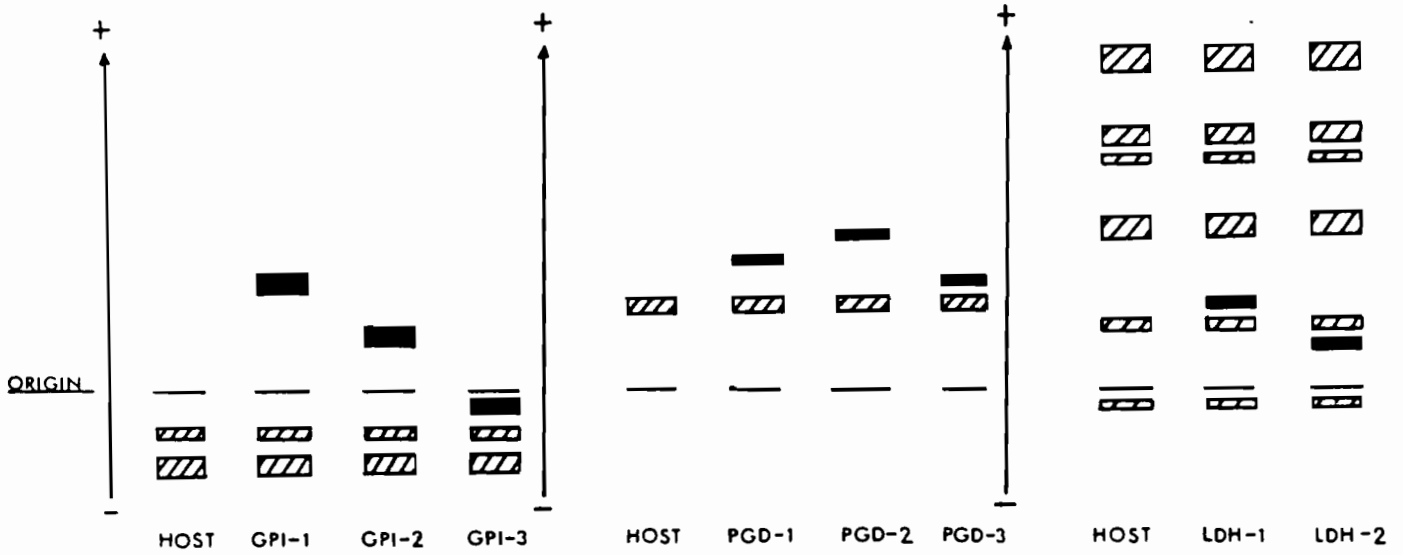


Fig. 1. Electrophoretic forms of GPI, PGD and LDH in *P. falciparum*.

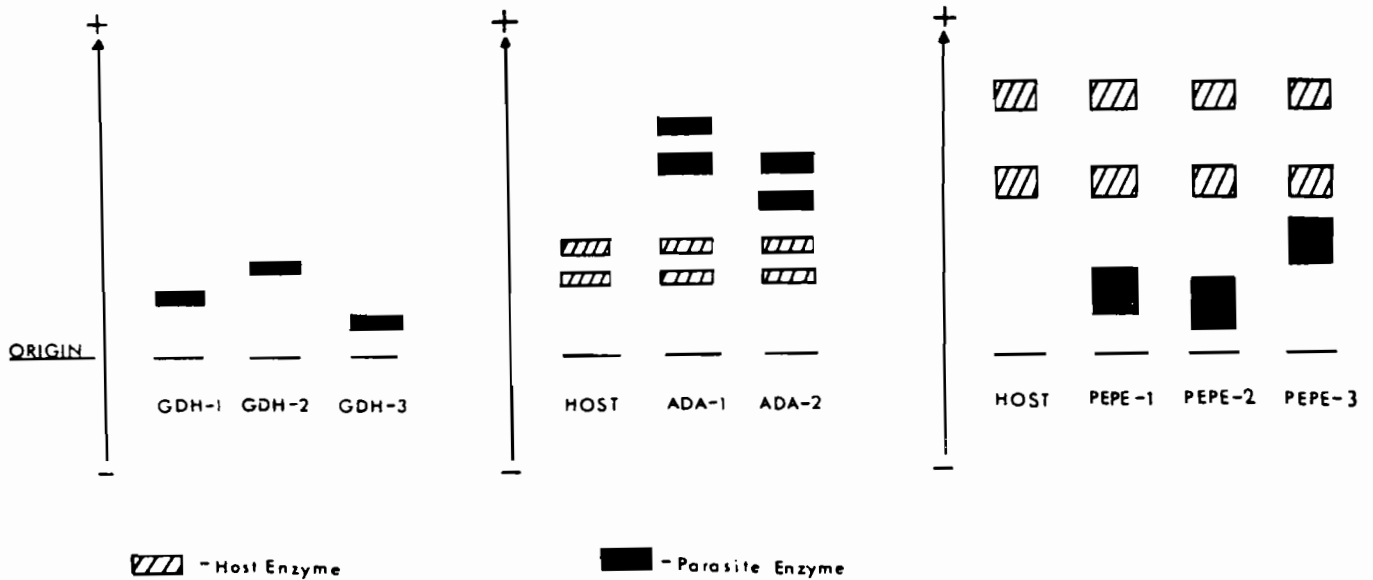


Fig. 2. Electrophoretic forms of GDH, ADA and PEPE in *P. falciparum*.

product number V-6875); 4 mg peroxidase (80 units/mg); and 20 mg manganese chloride. This solution was warmed to 45°C, mixed with 25ml 2% agar also at 45°C and poured on to the cut surface of the gel. After the agar had solidified a piece of Whatman No.1 filter paper, soaked in a solution of 3-amino-9-ethyl carbazole (12.5 mg amino ethyl carbazole in 2 ml ethanol) was laid on the surface. PEPE activity was indicated by gradual development of a deep pink stain.

Results

Figs. 1 and 2 illustrate all the electrophoretic forms of each of the six enzymes so far found in isolates of *P. falciparum*. Using the systems of

starch gel electrophoresis described, parasite enzymes could be clearly distinguished from those of the host. In the case of GDH, no host enzyme occurs.

Two forms of GPI and LDH and three of PGD were found, as described previously by CARTER & MCGREGOR (1973). A third form of GPI, GPI-3, has so far only been detected in one isolate of *P. falciparum* from Thailand (see following paper by THAITHONG, SUEBLINWONG & BEALE 1981), and is included in Fig. 1 for completeness. Three forms of GDH, two of ADA and three of PEPE were detected.

Table I shows the distribution of enzyme forms in the freeze-dried isolates of *P. falciparum* from

ie Gambia, Tanzania and Congo. The total numbers shown for each enzyme vary because a number of isolates failed to give bands for certain enzymes. Table II shows the enzyme forms of cultured isolates of *P. falciparum* from a variety of Old World countries.

Discussion

In this work we have made use of both freeze-dried and fresh cultured parasites for enzyme electrophoresis. We have found that freshly prepared cultured parasites, either put directly on to gels or after storage under liquid nitrogen showed much better enzyme activity than freeze-dried material stored under vacuum at -20°C . GPI especially suffers after several years of freeze-dried storage, the bands of activity becoming less discernible. The freeze-dried material used in this work also suffered from the disadvantage that no further living samples of the isolates were available. It was thus impossible to check whether rare variant forms of some enzymes were due to contamination by other malaria species or even due to other organisms.

In the earlier work on enzyme typing of *P. falciparum*, CARTER & VOLLER (1975) found the same electrophoretic forms of GPI, PGD and LDH among isolates from The Gambia and Tanzania. Furthermore, the frequencies of the different forms of the most variable enzymes GPI and LDH were similar in each country, indicating that the parasites were genetically similar in each region.

The present work extends the range of enzymes available to include GDH, ADA and PEPE. GDH has previously been used extensively in studies of rodent malaria, but only to a limited extent with *P. falciparum* (CARTER & WALLIKER, 1977). In the present studies a single form of GDH (GDH-1) was found in almost all isolates. A second form (GDH-2) occurred in two Tanzanian samples and a third form (GDH-3) in one Gambian sample.

Two electrophoretically distinct forms of ADA were found. The more common form, ADA-1, occurred in 51 out of 53 freeze-dried Gambian isolates showing activity for this enzyme, seven out of eight Tanzanian and seven out of eight Congolese isolates. ADA-1 was the only form of this enzyme detected in the 15 cultured samples. ADA-2 occurred most commonly in Tanzania, one of the eight isolates showing this form exclusively, whereas six showed ADA-1 and ADA-2. In the Gambia only four isolates showed ADA-2, either alone or in combination with ADA-1, and in the Congo, two isolates possessed ADA-2.

The parasite bands of PEPE were large, diffuse and slow to develop. As shown in Fig. 2, three forms have been recognized, denoted PEPE-1, PEPE-2 and PEPE-3. Of these PEPE-1 and PEPE-2 possess only a slight difference in mobility with considerable overlap between the bands. By lowering the concentration of parasite material inserted into the gel, the edges of the bands contract towards the centre. Thus unless the parasite concentration of each sample is similar it is difficult to distinguish these two forms. For this

enzyme, therefore, it is important to examine each sample several times using different concentrations and carefully selected controls before definite identification of PEPE-1 and PEPE-2 can be made. While most samples examined could be classified with some confidence, the PEPE type of a few isolates must be regarded as provisional at present (see Table II).

The distribution of the three forms of PEPE appears to show some regional variation. Among the freeze-dried samples, Gambian isolates possessed only PEPE-1, Tanzanian only PEPE-2 and PEPE-3 and Congolese only PEPE-1 and PEPE-3. A cultured isolate from a patient in the Netherlands, recently returned from Tanzania (NF 56), possessed PEPE-1 as did most other cultured samples. PEPE-2 occurred in isolates from Ghana (NF7) and Indonesia (NF58) and was provisionally identified in those from Zaire (Z90) and East Africa (M19).

With regard to the forms of GPI, PGD and LDH originally described by CARTER & MCGREGOR (1973), the present results confirm the frequencies of the variant forms in The Gambia and Tanzania. GPI-1 and GPI-2 are also found among the various cultured isolates from other countries, as well as in freeze-dried samples from Congo. Parasites exhibiting the form of LDH denoted LDH-2 have been found only in freeze-dried isolates from The Gambia, Tanzania and Congo. No cultured samples from Africa or any other country show this form. The rare forms of PGD, PGD-2 and PGD-3 have been found so far only in The Gambia.

In contrast to rodent malaria species, isolates of *P. falciparum* from different regions of the world appear to possess remarkably similar enzyme forms. There is, however, a difference in frequency of the enzyme variants in different regions. LDH-2, for example, occurs in The Gambia, Tanzania and Congo, but so far has not been detected in isolates from other countries. The different PEPE variants also vary markedly in their frequency, particularly between East and West Africa. This observation needs to be confirmed by further work, particularly in view of the similarities between PEPE-1 and PEPE-2 as revealed by our system of electrophoresis. We also need to examine more isolates from other parts of the world, especially from South America, to help complete the world wide picture of enzyme variation in *P. falciparum*.

Acknowledgements

This work was supported by grants to Professor G. H. Beale from the Wellcome Trust, UNDP/World Bank/WHO Special Programme, and the Medical Research Council of Great Britain. We thank Dr. A. Tait for helpful discussions, especially on electrophoresis, and Mr. R. Fawcett for technical help with *P. falciparum* cultures.

References

- Carter, R. (1978). Studies on enzyme variation in the murine malaria parasites *Plasmodium berghei*, *P. yoelii*, *P. vinckei* and *P. chabaudi* by starch gel electrophoresis. *Parasitology*, **76**, 241-267.

- Carter, R. & McGregor, I. A. (1973). Enzyme variation in *Plasmodium falciparum* in The Gambia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **67**, 830-837.
- Carter, R. & Voller, A. (1975). The distribution of enzyme variation in populations of *Plasmodium falciparum* in Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **69**, 371-376.
- Carter, R. & Walliker, D. (1977). Biochemical markers for strain differentiation in malarial parasites. *Bulletin of the World Health Organization*, **55**, 339-345.
- Harris, H. & Hopkinson, D. A. (1976). *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. Amsterdam : North-Holland Publishing Company.
- Thaithong, S., Sueblinwong, T. & Beale, G. H. (1981). Enzyme typing of some isolates of *Plasmodium falciparum* from Thailand. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **75**, 268-270.
- Trager, W. & Jensen, J. B. (1976). Human malaria parasites in continuous culture. *Science*, **193**, 673-675.
-

Accepted for publication 6th May, 1980.

LA TRANSMISSION DU PALUDISME EN ZONE DE SAVANE ARBOREE ET EN ZONE RIZICOLE DES ENVIRONS DE BOBO DIOULASSO (BURKINA FASO)

par

V. ROBERT, P. GAZIN, C. BOUDIN, J. F. MOLEZ, V. OUEDRAOGO & P. CARNEVALE
Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz, B. P. 171, Bobo Dioulasso, Burkina Faso

Résumé — Une étude de la dynamique de la transmission du paludisme a été effectuée pendant deux ans dans trois villages des environs de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Ces villages ont été choisis comme étant les plus représentatifs des principales situations écologiques de la région : savane arborée soit relativement sèche, soit plus humide de par la proximité d'un marigot sub-permanent et zone rizicole de création récente (\cong 12 ans).

176 séances de captures de nuit sur sujets humains ont montré que partout la transmission est saisonnière, elle est perceptible après le début des pluies et s'effectue majoritairement entro la milieu de la saison des pluies et le début de la saison sèche.

En savane *Anopheles gambiae* s.l. et *Anopheles lunestus* assurent la grande majorité de la transmission alors que *A. lunestus* n'est pas ou peu représenté en rizière.

En savane relativement sèche la densité de ces vecteurs est « faible » (1.200 piqûres de vecteurs/homme/an) et la transmission est de l'ordre de 55 piqûres infectées réparties de juin à octobre.

En savane plus humide la densité est « moyenne » (7 000 piqûres/homme/an) et la transmission annuelle nettement plus forte, de l'ordre de 133 piqûres infectées réparties de mai à décembre.

En zone rizicole la densité est très élevée (14 000 piqûres/homme/an) toute l'année grâce à l'irrigation permanente. Toutefois le taux annuel d'inoculation et la période de transmission sont comparables à ceux de la savane sèche (50 à 60 piqûres infectées/homme/an réparties de mai à novembre).

Ainsi la zone rizicole constitue un « paradoxe épidémiologique » où la densité de vecteur est 10 fois supérieure à celle de la savane avoisinante, mais les indices sporozoïtiques sont environ 10 fois moindres, de sorte qu'il n'y a pas d'accroissement de la transmission. Les raisons de cette situation anophélienne sont analysées et discutées.

Cette étude illustre, dans les savanes d'Afrique de l'ouest, quelles peuvent être les conséquences d'une modification du biotope en zone rizicole sur la transmission du paludisme. Un aménagement hydro-agricole a effectivement entraîné une pullulation permanente d'anophèles mais celle-ci n'a pas été suivie de l'augmentation attendue de la transmission.

KEYWORDS : Malaria, Transmission; *Anopheles gambiae*; *Anopheles lunestus*; Burkina Faso.

Parmi les nombreux problèmes qui se posent en Afrique, deux revêtent une importance cruciale actuellement : l'alimentation et la sécheresse. Ces deux problèmes ont un dénominateur commun : la maîtrise de l'eau. Cependant les « aménagements hydrauliques à usage agricole peuvent avoir des répercussions... sur l'épidémiologie des maladies à vecteurs » (6) notamment le paludisme, la bilharziose...

La création de zones rizicoles se traduit généralement par un changement de la faune culicidienne avec, en Afrique, une massive augmentation d'*Anopheles gambiae* s.l. Ceci a été noté aussi bien au Kenya (2, 9) qu'en Gambie (7, 8) où cet auteur considère que les rizières constituent une situation idéale pour les moustiques. En est-il de même pour les populations humaines ? La question doit être envisagée au moment où des pro-

jets de pisciculture, riziculture et autres aménagements hydroagricoles se mettent en place dans les zones sahéliennes et sub-sahariennes.

Dans le présent travail nous avons cherché à préciser la dynamique de la transmission du paludisme dans le périmètre aménagé en zone rizicole de la Vallée du Kou, et à la comparer à celle des villages de la savane typique environnante. Des études parasitologiques et immunologiques sont réalisées parallèlement dans ces villages et feront l'objet d'autres publications.

1. Présentation des biotopes

1.1. Climat général

Il se caractérise par l'alternance de deux saisons : la saison des pluies : de début mai à fin octobre avec un maximum de précipitations en août; la saison sèche : de début novembre à fin avril pratiquement sans précipitations sauf parfois en mars (Fig. 1). La moyenne des précipitations annuelles dans la région de Bobo-Dioulasso se situe à 1.000 mm.

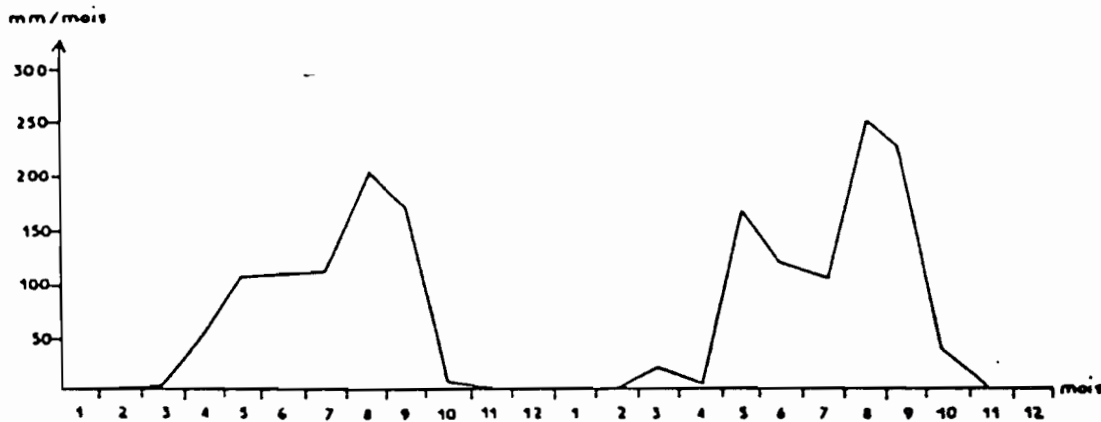


Figure 1.
Pluviométrie en 1983 et 1984 dans la région de Bobo-Dioulasso.

Les mois de décembre, janvier et février sont nettement plus frais et plus secs que le reste de l'année.

1.2. Les villages étudiés dans la zone de savane

La zone phytogéographique considérée est la marge nord des savanes soudano-guinéennes. Le paysage est typiquement arboré. Le tapis herbacé est très dense et très fourni; il est habituellement brûlé en début de saison sèche.

« Dandé » et « Tago » sont deux quartiers d'un même village à 55 km au nord de Bobo-Dioulasso sur l'axe Bobo-Mopti. L'habitat est de type traditionnel : à Dandé, il est groupé avec des cases parallépipédiques à murs de banco et toiture intérieure de bois; à Tago, il est plus dispersé, les cases sont circulaires avec un mur de banco et des toits coniques en paille tressée. L'ethnie dominante est Bobo à Dandé et Mossi à Tago. Il n'y a pas de mare ou marigot à proximité.

« Kongodjan » est un espace de bas-fond argileux à proximité d'un marigot permanent, récemment peuplé de Samos et de Mossis. L'habitat est organisé en concessions dispersées.

1.3. Les villages étudiés dans la zone rizicole

C'est une zone de 1.000 hectares d'un seul tenant à 30 km au nord de Bobo-Dioulasso sur l'axe Bobo-Mopti.

L'irrigation y est le fait essentiel; elle se fait grâce à un petit barrage sur une rivière permanente (le Kou) et un canal principal d'amenée d'eau puis par un réseau de canaux. La riziculture se déroule en deux campagnes annuelles, l'une en saison des pluies de juillet à novembre, l'autre dite de « contre saison », en saison sèche de janvier à juin.

Six villages construits entre 1970 et 1972 abritent 10.000 personnes majoritairement Mossis. « VK4 » est un village au cœur de la rizière, « VK6 » la borde. Les cases sont alignées, le plus souvent parallépipédiques avec des murs de banco et un toit en tôle ondulée, d'autres sont circulaires avec un mur de banco et un toit conique en paille.

2. Matériel et méthodes

Les anophèles sont prélevés à l'intérieur de quatre maisons par la méthode classique des captures de nuits sur sujets humains. Une équipe de 4 captureurs travaille de 20 h à 01 h puis une autre de 01 h à 06 h, deux nuits consécutives toutes les 4 semaines dans chaque village.

La détermination et la dissection (ovaires + glandes salivaires) se font le matin au laboratoire. La détermination de la parturité est faite selon la méthode classique de Detinova (4) tandis que la recherche des sporozoïtes se fait à frais, entre lame et lamelle dans une goutte d'eau physiologique.

3. Résultats

Au total 17.395 anophèles dont 11.938 *A. gambiae* s.l., 2.664 *A. funestus*, 41 *A. nili*, 2.426 *A. pharoensis*, 319 *A. coustani*, 6 *A. rutipes* et 1 *A. squamosus* ont été récoltés au cours des 176 séances de captures faites en 1983 et 1984.

3.1. Composition de la faune culicidienne agressive pour l'homme

En savane, *A. gambiae* et *A. funestus* représentent 85% des effectifs culicidiens récoltés. Annuellement un habitant de Dandé reçoit quelques 1.750 piqûres de moustiques entre 20 et 06 heures, dont 1.500 d'*A. gambiae* et *A. funestus*. Le reste se répartit entre *A. pharoensis*, *A. coustani*, *A. nili*, divers *Aedes* et *Culex*.

En rizière, *A. gambiae* et *A. funestus* représentent 70% des effectifs culicidiens récoltés. Annuellement un habitant de VK6 reçoit 20.000 piqûres de moustiques dont 13.900 d'*A. gambiae* et *A. funestus*. Le reste se

compose d'*A. pharoensis*, *A. coustani*, *A. nili*, *C. fatigans*, *C. poicillipes*, divers *Mansonia*, *Aedes* et *Culex*.

Par la suite nous ne prendrons en considération que les deux principaux vecteurs du paludisme dans la région : *A. gambiae* s.l. et *A. funestus*, car pour les autres vecteurs, soit leurs effectifs (*A. nili*) soit leur taux d'infection (*A. pharoensis*, *A. coustani*) sont négligeables.

3.2. Variations saisonnières des densités de vecteurs

En rizière le nombre annuel de piqûres d'anophèle vecteur est d'environ 14.000, à Kongodjan il est de 7.500 et de 1.400 en savane sèche. Ainsi la densité agressive d'anophèles est globalement 10 fois plus intense en zone rizicole que dans les villages de savane et 3 fois plus importante qu'à Kongodjan installé près d'un marigot (Tableau 1). Mais, outre la densité anophélienne, c'est aussi la période où ont lieu ces piqûres qui différencie les biotopes considérés.

TABLEAU 1
Densités anophéliennes moyennes enregistrées en 1953 et 1984
à l'occasion des captures de nuit sur sujets humains

Village (faciès)	Especies	Nombre de mois positifs	- ma - quotidien pour les mois positifs	- ma - annuel
Dandé - Tago (savane type)	<i>A. gambiae</i>	6	3,5	845
	<i>A. funestus</i>	< 5	3,1	535
	Total	< 7	6,5	1 380
Kongodjan (savane près d'un marigot sub-permanent)	<i>A. gambiae</i>	10	11,0	4 010
	<i>A. funestus</i>	6-12	9,5	3 470
	Total	11	21,5	7 480
VK 6 (rizière périphérie)	<i>A. gambiae</i>	12	36,2	13 320
	<i>A. funestus</i>	4	4,5	580
	Total	12	38,0	13 900
VK 4 (rizière centre)	<i>A. gambiae</i>	12	37,5	13 930
	<i>A. funestus</i>	2	1,2	70
	Total	12	38,3	14 000

- ma - = nombre de ♀/H/N.

3.2.1. En savane

A Dandé-Tago sur l'ensemble de l'année la densité moyenne est de 3,5 femelles par homme par nuit (♀/H/N) d'*A. gambiae* et 3,1 ♀/H/N d'*A. funestus*. Pendant les mois où les anophèles sont capturés le nombre moyen de piqûre d'anophèle/H/N est 6,5.

A Dandé les maxima ont été de 16 ♀/H/N d'*A. gambiae* en septembre, 8 ♀/H/N d'*A. funestus* en octobre et 19 piqûres d'anophèles/H/N en septembre. Aucune piqûre n'a été enregistrée de décembre à avril. *A. gambiae* et *A. funestus* ont des évolutions comparables mais décalées dans le temps, toutefois ces deux espèces disparaissent pratiquement en même temps, un mois après la fin des pluies (Fig. 2a).

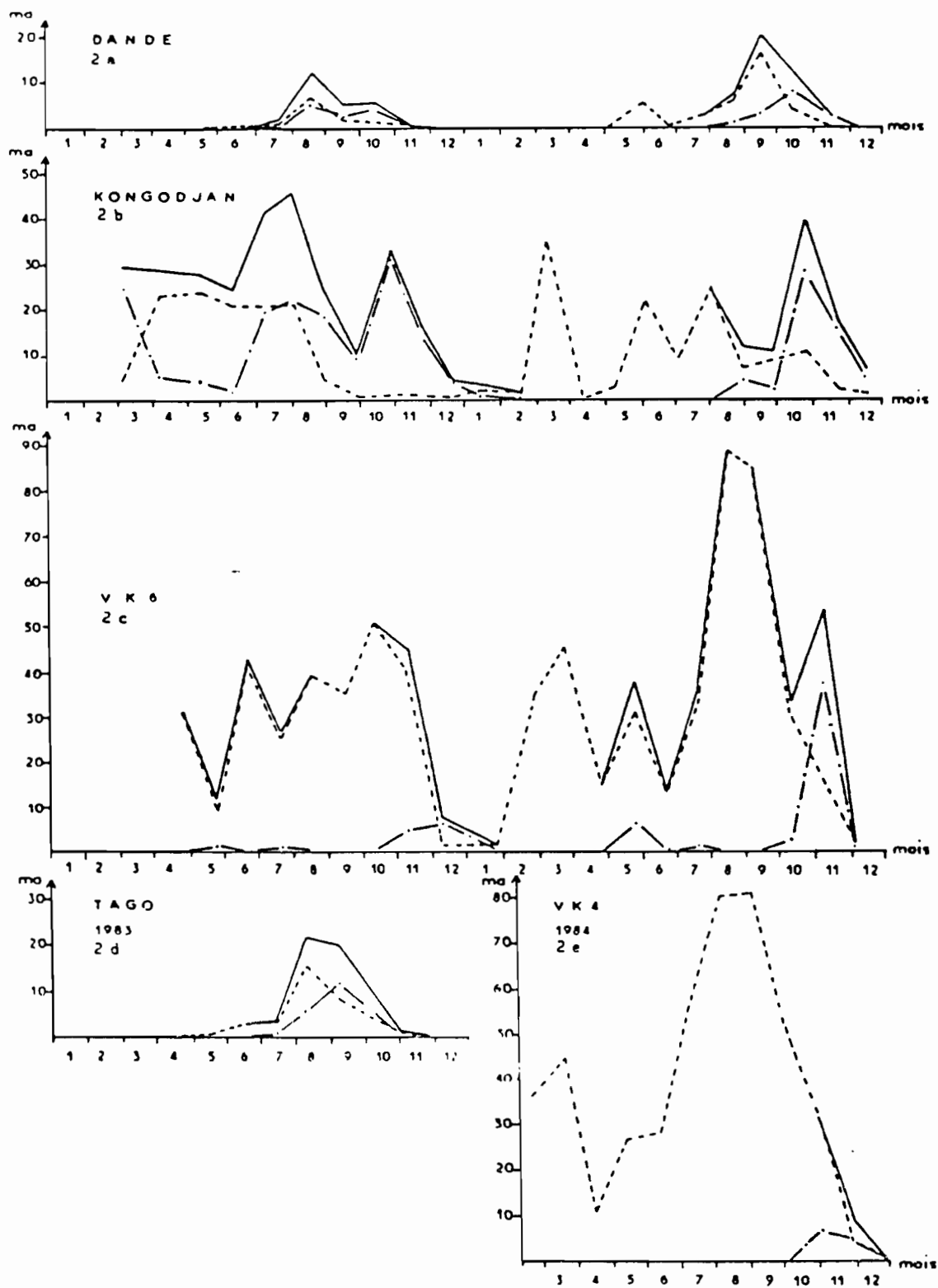


Figure 2.
 Taux quotidien de piqûres
 dû à *Anophèles gambiae* - - - - - , *A. funestus* . — — — ., total *A. g.* + *A. f.* — — — — —
 en 1983 et 1984

A Kongodjan la densité d'*A. gambiae* est de 11,0 ♀/H/N et celle d'*A. funestus* est de 9,5 ♀/H/N pour la période où ces anophèles sont capturés soit 21,5 ♀/H/N sur l'ensemble des mois avec des anophèles.

Pour *A. gambiae* on note :

- en saison des pluies « un plateau » de l'ordre de 25 ♀/H/N d'avril à août 1983 et en 1984 une succession de pics (ma = 20 ♀/H/N) avec un maximum de 25 ♀/H/N début août;
- pendant la saison sèche une densité très faible (ma = 1 ♀/H/N) avec une « explosion » éphémère en mars 1984 (ma = 37 ♀/H/N) due à la « pluie des mangues » (Fig. 2b).

Ainsi *A. gambiae* est très abondant pendant les pluies et faiblement représenté pendant la saison sèche.

La densité d'*A. funestus* varie de 0 (fin de saison sèche) à 30 ♀/H/N (début de saison sèche). Le maximum est atteint en octobre-novembre alors que l'on ne capture que 2 à 3 ♀/H/N d'*A. gambiae*. Cette évolution générale a été notée en 1983 et en 1984. Ainsi *A. funestus* supplante *A. gambiae* pendant la 2^{me} partie de la saison des pluies et le début de la saison sèche.

3.2.2. En rizière

A VK4, la densité moyenne d'*A. gambiae* est de 37,5 ♀/H/N. Cette espèce atteint des valeurs de 80 ♀/H/N en pleine saison des pluies (Fig. 2e). Par contre les densités d'*A. funestus* sont nulles sauf en début de saison sèche (6 ♀/H/N en octobre-novembre).

A VK6, la densité moyenne d'*A. gambiae* est de 36,2 ♀/H/N avec des maxima de 90 ♀/H/N de août à septembre (Fig. 2c). *A. funestus* n'est pratiquement présent que d'octobre à décembre. En 1983 et en 1984 les densités maximum sont respectivement 6,5 et 38 ♀/H/N. A cette période la densité d'*A. gambiae* est en nette régression. C'est le moment de l'épiaison du riz, stade de développement de la plante (végétation dressée, ombre) qui n'est pas favorable à l'écologie larvaire d'*A. gambiae* mais favorable à celle d'*A. funestus*. Lorsque le riz est en phase de repiquage et au début de sa croissance on constate un pic spectaculaire de la densité d'*A. gambiae* avec plus de 80 ♀/H/N en août-septembre à VK4 (Fig. 2e) et VK6 (Fig. 2c), ainsi que quelques 45 ♀/H/N en mars pendant la « contre culture » de la saison sèche (Fig. 2c).

Comme attendu la culture inondée du riz crée et multiplie les gîtes larvaires qui s'ajoutent aux habituels gîtes naturels et anthropiques, entraînant en zone rizicole, une pullulation culicidienne dont la phénologie est fonction du rythme de l'irrigation de la culture et des précipitations atmosphériques.

3.3. Age physiologique des vecteurs

Le pourcentage moyen de femelles pares d'*A. gambiae* varie dans les trois principaux biotopes considérés : 46 % en zone rizicole, 73 % à Kongodjan et 61 % en savane typique (Tableau 2). C'est donc dans le village installé près du marigot que la longévité des populations imaginales

semble la meilleure. Par contre les pourcentages moyens de femelles pares d'*A. funestus* ne présentent pas ces variations en fonction du biotope : de 73 à 78 % pour l'ensemble des femelles capturées.

3.3.1. En savane

A Dandé et à Tago les effectifs d'*A. gambiae* capturés et disséqués sont trop faibles pour que l'on puisse tirer des conclusions définitives sur la variation saisonnière de l'âge physiologique des femelles agressives pour l'homme la nuit. Le pourcentage moyen de femelles pares prises de nuit est de 62 % pour *A. gambiae* et de 73 % pour *A. funestus*.

A Kongodjan le pourcentage annuel de femelles pares est de 73 % pour *A. gambiae* et de 77 % pour *A. funestus*.

Pour *A. gambiae*, en 1983, le taux de parturité (70 %) et la densité (25 ♀/H/N) sont élevés de façon concomitante de mars à août. Ensuite les effectifs sont trop faibles pour que les pourcentages aient une signification.

La capture, en mars 1984, de 295 ♀ révèle une bouffée anophélienne du seul *A. gambiae* (ma = 40 ♀/H/N) dont les femelles sont nullipares à 82,5%. En pleine saison sèche la pluie de mars crée des gîtes immédiatement et temporairement productifs autorisant le développement d'une « génération de reprise » d'*A. gambiae*. Cette génération n'a pas trouvé les conditions autorisant sa reproduction (Fig. 2b).

Début juin 1984 on note, sur 178 ♀ d'*A. gambiae* capturées, un taux de parturité très élevé (97 %) associé à un effectif en nette augmentation (de 3,1 à 22,2 ♀/H/N). Les pluies de mai ont créé comme en mars des gîtes larvaires à l'origine d'une nouvelle génération de reprise qui était déjà vraisemblablement une cohorte en régression lors de nos captures.

En août-septembre on capture peu d'*A. gambiae* (ma = 10 ♀/H/N) à fort taux de parturité (80 %), ceci peut traduire le classique « lessivage » des gîtes larvaires par les pluies fréquentes et abondantes à cette période de l'année.

3.3.2. En rizière

A VK4 les pourcentages de femelles pares sont relativement faibles, toujours inférieurs à 45 % pour *A. gambiae* sauf en octobre-novembre. La prédominance des jeunes femelles est très nette en mars où sur les 169 spécimens disséqués 96,5 % sont nullipares. A cette période la densité est élevée (ma = 45 ♀/H/N); l'association d'une telle densité avec un pourcentage très élevé de femelles nullipares signe la productivité des gîtes larvaires en pleine saison sèche. L'ensemble de la population capturée à ce moment-là provient d'une éclosion massive et synchrone précédant de quelques jours les séances de captures.

On note également que le maximum de densité (80 ♀/H/N en août) correspond au minimum du taux de parturité (16 % de femelles pares). Cette forte densité d'*A. gambiae* pendant les pluies signent la production permanente et intense des gîtes, phénomène classique observé précédemment (5).

A VK6 les taux de parturité d'*A. gambiae* sont toujours plus élevés qu'à VK4 (respectivement 54 % et 40 % pour *A. gambiae*) avec des maxima de 97 % en juin et 93 % en juillet (pluies) et un minima de l'ordre de 20 % en février-mars (saison sèche). A cette période la densité est de l'ordre

de 40 ♀ /H/N. L'association de cette forte densité et du pourcentage élevé de femelles nullipares signe la production pendant la saison sèche, des gîtes larvaires près de ce village situé à la lisière rizière-savane.

3.4. Infectivité des vecteurs

Les indices sporozoïtiques d'*A. gambiae* et *A. funestus* les plus faibles sont notés en zone rizicole et plus élevés dans les villages de savane typique; ils sont intermédiaires à Kongodjan : respectivement 0,5 %, 4,8 % et 1,7 % pour *A. gambiae*; 0,6 %, 4,6 % et 2,1 % pour *A. funestus* (Tableau 2). On note que dans les trois biotopes considérés les indices d'infectivité des deux vecteurs présentent des valeurs moyennes comparables.

TABLEAU 2.
Indice sporozoïtique moyen et taux de parturité moyen des femelles agressives pour l'homme capturées de nuit à l'intérieur des maisons en 1983 et 1984

Village (facies)	Espèce	Indice sporozoïtique (en %)		Taux de parturité (en %)	
		pour les mois positifs	pour l'ensemble de l'année	pour les mois positifs	pour l'ensemble de l'année
Dandé-Tago (savane type)	<i>A. gambiae</i>	6,5	4,8	61	62,1
	<i>A. funestus</i>	6,3	4,6	73,6	73,4
Kongodjan (savane près d'un marigot sub-permanent)	<i>A. gambiae</i>	3,7	1,7	72,5	72,9
	<i>A. funestus</i>	2,8	2,1	78,1	76,6
V 4 + VK 6 (rizière)	<i>A. gambiae</i>	1,4	0,5	45,8	45,8
	<i>A. funestus</i>	0,9	0,6	73,5	73,2

Les variations de l'indice sporozoïtique sont concomitantes de celles du taux de parturité aussi bien en savane qu'en zone rizicole.

3.4.1. En savane

A Dandé-Tago sur les 659 femelles d'*A. gambiae* disséquées pour l'ensemble de l'étude, 32 soit 4,8 % sont positives. Ces infections ne sont notées que pendant quatre mois à Dandé et cinq mois à Tago; pour ces mois l'indice sporozoïtique moyen d'*A. gambiae* est de 6,5 %. Sur les 303 glandes salivaires d'*A. funestus* examinées, 14 soit 4,6 % sont positives; ces infections sont décelées pendant 2-3 mois (de septembre à octobre à Dandé; d'août à octobre à Tago) et l'indice sporozoïtique moyen est alors de 6,3 %.

A Kongodjan les femelles d'*A. gambiae* sont trouvées infectées pendant quatre à six mois par an sans discontinuité. L'indice sporozoïtique moyen d'*A. gambiae* est 3,7 % pour les mois « positifs » tandis que pour l'ensemble de l'étude il est 1,7 % (2.072 glandes salivaires examinées). Les maxima ($\approx 7\%$) sont enregistrés au cours de la seconde partie de la saison des pluies (août 1983; septembre-octobre 1984).

L'indice sporozoïtique moyen d'*A. funestus* est 2,8 % pendant les mois « positifs » et 2,1 % pour l'ensemble de l'étude (1.601 glandes salivaires disséquées). Le maximum est 6,0 % en juillet-août 1984. On remarque que

des femelles d'*A. funestus* sont trouvées infectées en novembre et décembre alors qu'*A. gambiae* n'est presque plus représenté.

3.4.2. En rizière

Les indices sporozoïtiques d'*A. gambiae* sont faibles : 1,4% en moyenne pour les mois positifs (juin à novembre) et 0,5% pour l'ensemble de l'étude (effectif 8.042 glandes disséquées). L'indice maximum (5,3% sur un effectif de 262) est enregistré à VK6 en juillet 1984. Pour les 2 années considérées l'indice sporozoïtique d'*A. funestus* est 0,6% (effectif 492).

3.5. Taux quotidien et taux annuel d'inoculation

3.5.1. En savane

A Dandé-Tago la transmission est perceptible de mai à octobre (Fig. 3a) avec une moyenne de 0,34 piqûres infectées d'*A. gambiae*/H/N et 0,30 piqûres infectées d'*A. funestus*/H/N (Tableau 3). Pendant la période de transmission la population reçoit en moyenne 0,45 piqûres infectées/H/N. Le maximum enregistré est de 1,15 piqûres infectées/H/N à Tago en août (Fig. 3d).

TABLEAU 3
Taux d'inoculation quotidien moyen pour les mois où la transmission est observée et annuel moyen (h) calculés pour les années 1983 et 1984

Village (faciés)	Espèces	Nombre de mois positifs	h quotidien pour les mois positifs	h annuel
Dandé - Tago (savane type)	<i>A. gambiae</i>	5	0,34	38
	<i>A. funestus</i>	3	0,30	17
	Total	5	0,45	55
Kongodjan (savane près d'un marigot sub-permanent)	<i>A. gambiae</i>	4-6	0,51	69
	<i>A. funestus</i>	3-6	0,51	64
	Total	7-8	0,63	133
VK 6 (rizière périphérie)	<i>A. gambiae</i>	4-6	0,41	54
	<i>A. funestus</i>	0-3	0,13	6
	Total	5-6	0,42	60
VK 4 (rizière centre)	<i>A. gambiae</i>	5	0,36	50
	<i>A. funestus</i>	0	0	0
	Total	5	0,36	50

Dans ces villages de savane typique le nombre annuel de piqûres infectées est d'environ 55 (38 d'*A. gambiae* + 17 d'*A. funestus*).

Dans le quartier Tago la transmission est due davantage à *A. gambiae* qu'à *A. funestus*.

A Dandé en 1983 *A. funestus* est aussi important sinon plus qu'*A. gambiae* et succède à cette espèce en assurant la transmission pendant la seconde partie de la saison des pluies. En 1984 par contre *A. gambiae* assure la plus grande partie de la transmission (Fig. 3a).

A Kongodjan la durée de transmission est supérieure à celle enregistrée à Dandé-Tago. Elle est bien perceptible pendant sept à huit mois,

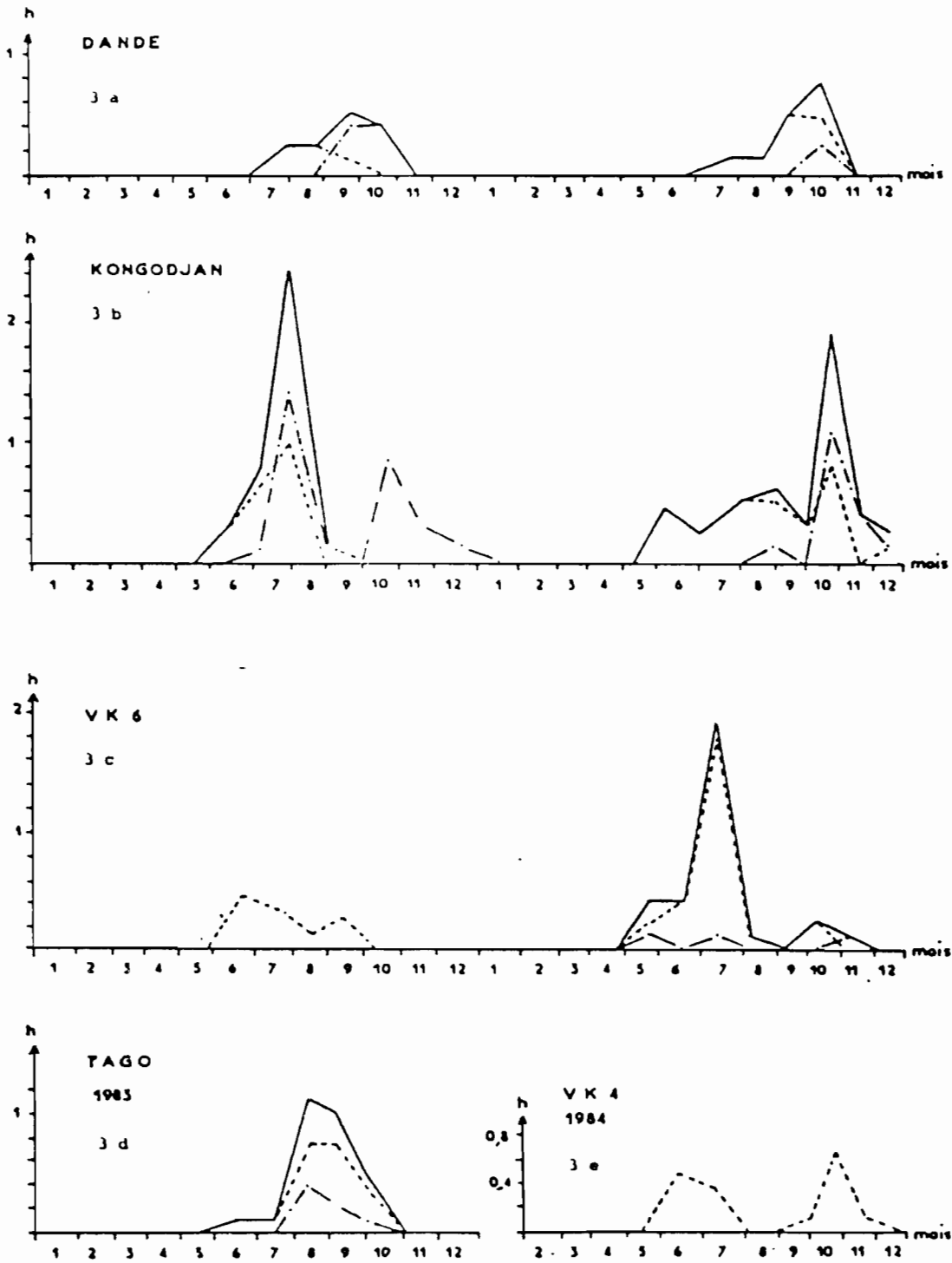


Figure 3.
 Taux quotidiens d'inoculation
 dû à *Anopheles gambiae* ---, *A. lunestus* - - - - , total *A. g.* + *A. f.* —
 en 1983 et 1984.

de mai à décembre (Fig. 3b). Les périodes de transmission des deux vecteurs étant décalées les habitants de Kongodjan reçoivent en moyenne 0,63 piqûres infectées/H/N pendant cette période soit quelque 133 piqûres d'anophèles infectés par an.

En 1983 la transmission est due surtout à *A. funestus* (Fig. 3b) tandis qu'en 1984 c'est *A. gambiae* qui est le principal vecteur. Les maxima enregistrés sont 2,4 piqûres infectées/H/N en juillet-août 1983 et 1,9 en octobre 1984.

3.5.2. En rizière

A VK4 la transmission est faible et d'allure bimodale (Fig. 3e), elle est effective en mai-juin et octobre-novembre. Elle n'est le fait que d'*A. gambiae*. En juillet-août le maximum de densité (80 ♀/H/N) est associé à un minimum du taux de parturité (20 %); la « jeunesse » de cette population peut expliquer l'absence de glandes salivaires infectées et donc l'absence transitoire de transmission au cœur de la saison des pluies. Pendant la période de transmission, chaque villageois reçoit 0,36 piqûres infectées d'*A. gambiae*/H/N, soit 50 piqûres infectées par an.

A VK6 la transmission présente deux pics, le premier en juin-juillet (0,41 piqûres infectées/H/N en 1983; 1,9 en 1984) et le second nettement moins accentué, en septembre-octobre (0,25 piqûres infectées/H/N en 1983 et 1984) (Fig. 3c). Pendant la période de transmission les gens reçoivent 0,41 piqûres infectées/H/N d'*A. gambiae* et 0,13 piqûres infectées/H/N d'*A. funestus* soit 0,42 piqûres d'anophèles infectées/H/N. Par an ils reçoivent 60 piqûres infectées dont 54 d'*A. gambiae* et 6 d'*A. funestus*. Là aussi cette dernière espèce intervient dans la transmission du paludisme en fin de saison des pluies.

4. Discussion

L'observation conjointe des densités et de l'âge physiologique des femelles d'*A. gambiae* capturées en mars et juin 1984 à Kongodjan permet de dégager la notion de cohorte. Ces deux échantillonnages révèlent l'existence de populations à émergence synchrone et le caractère discontinu de ce phénomène. La capture de mars, avec ses 82 % de femelles nullipares, concerne une population issue d'une éclosion massive et récente. La capture de juin avec ses 97 % de femelles pares concerne une population vieillissante et non renouvelée. Ceci laisse penser qu'au moins au moment où le régime des pluies se met en place l'émergence d'une cohorte est un phénomène isolé dans le temps de sorte que la dynamique des populations préimaginales et imaginaires procède selon un mode discontinu. Cette observation corrobore l'écologie préimaginaire d'*A. gambiae* qui se développe préférentiellement dans des flaques d'eau temporaires. C'est parce que la méthode utilisée a permis la collecte de très nombreux spécimens dans un intervalle de temps court (deux nuits consécutives) que cette information sur la discontinuité dans la production des gîtes larvaires d'*A. gambiae* a été obtenue.

En rizière les taux de parturité observés sont étonnamment bas. Des taux de parturité très faibles peuvent résulter d'une longévité réduite ou d'une dispersion différente des femelles pares et nullipares (1). Si les pares ont des potentialités de déplacement supérieures aux nullipares, en plaçant des captureurs au voisinage des gîtes larvaires le pourcentage de jeunes femelles est surestimé par rapport à son taux réel dans l'ensemble

de la population. Or, dans la rizière la multiplication des gîtes et leurs extensions sur un domaine de quelques 1.000 hectares, entraînant que la situation du captureur par rapport aux gîtes larvaires est secondaire, font que l'influence du lieu de capture biaise peu l'échantillonnage. Donc on peut raisonnablement penser à une forte réduction de la longévité des femelles d'*A. gambiae*, d'ailleurs plus nette dans le village installé au centre de la zone rizicole.

En Vallée du Kou, on note une remarquable corrélation négative entre les variations des densités d'*A. gambiae* et les pourcentages de femelles pares : aux pics de densité correspondent toujours les minima de femelles pares et vice-versa (Fig. 3). Cette double séquence est observée aussi bien en 1983 qu'en 1984. Dans ces conditions on peut supposer des relations de causalité et envisager l'action de mécanismes régulateurs du type compétition intraspécifique au stade imaginal. Dans la zone rizicole, l'abondance et la production des gîtes larvaires entraîneraient l'apport massif et continu de femelles néonates; cette surabondance d'imagos tendrait à limiter la longévité des populations, donc à réduire le pourcentage d'adultes multipares. Cette hypothèse doit être explorée.

Les présentes études de la dynamique de la transmission en savane retrouvent les données d'Hamon *et al.* (5) quant au caractère saisonnier de la transmission clairement reliée au rythme des pluies et à la succession *A. gambiae* puis *A. funestus*. Ces auteurs avaient noté que les modalités de transmission pouvaient être différentes selon les villages, et notamment ceux installés près des marécages. Hamon *et al.* (5) écrivaient alors : « il est toujours dangereux de généraliser, même en zone de savane ». Cette observation rejoint les nôtres; le village de Kongodjan proche d'un marigot permanent enregistre trois fois plus de piqûres et 2,5 fois plus de transmission que Dandé-Tago en savane plus sèche.

Ces différences de transmission sont accentuées lorsque le biotope fait l'objet de modifications importantes pour des aménagements hydro-agricoles. Les habitants de la rizière sont abondamment piqués par les anophèles pendant la saison sèche, surtout lors du repiquage du riz qui nécessite une lame d'eau de 3 à 5 cm dans les parcelles. Il y a alors une pullulation des gîtes larvaires qui produisent une densité atteignant 40-45 piqûres/H/N. Mais ces anophèles ont une courte durée de vie et ne sont pas infectants. Dans la zone rizicole on relève une densité apparente d'anophèles dix fois plus importante que dans le village de savane typique (14.000/H/an) VK4 et 1.380 à Dandé mais là transmission y est quantitativement comparable (environ 50 piqûres infectées/H/an). Il faut souligner les conséquences de cette pullulation culicidienne en zone rizicole sur le comportement des villageois qui se sont équipés de moustiquaires, plus ou moins en bon état, dans leurs maisons. Dans ces conditions il est vraisemblable qu'ils reçoivent moins de piqûres, et donc moins de piqûres infectées que celles estimées par la méthode classique. Par ailleurs on note la présence du bétail le soir à l'intérieur des villages à proximité des habitations. Ceci peut influencer le comportement trophique des anophèles; effectivement les premières études ont révélé une réduction de l'anthropophilie (72 % en savane et 40 % en rizière pour *A. gambiae*, Robert et Killick Kendrick, observations non publiées). La possibilité de zoophagie et la réduction de la longévité peuvent participer à l'explication du « para-

doxe épidémiologique » que constitue cette zone rizicole, particulièrement en saison sèche, où on observe un important anophélisme à *A. gambiae* sans transmission observée du paludisme.

Coosemans *et al.* (3) observent l'inverse dans la plaine de la Ruzizi au Burundi où le paludisme est instable; la riziculture semble déterminante dans l'accroissement local de l'endémicité.

Cette différence d'observation montre combien il serait dangereux d'extrapoler et de généraliser et combien toute modification du biotope par des aménagements hydrauliques et agricoles doivent faire l'objet d'une attention particulière et spécifique.

5. Conclusion

Le périmètre rizicole représente une véritable « enclave épidémiologique » dans la zone de savane avoisinant Bobo-Dioulasso.

Cette constatation suscite un certain nombre de questions dont l'étude est en cours mais elle apporte une contribution positive pour les projets d'aménagements rizicoles actuellement élaborés dans des régions comparables d'Afrique de l'ouest en montrant clairement que de l'augmentation des densités anophéliennes ne découle pas nécessairement un accroissement de la transmission du paludisme.

Malaria transmission in wooded grassland and in rice field areas around Bobo Dioulasso (Burkina Faso).

Summary — A two years study has been carried out in the region of Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), in three villages chosen to represent the main ecological situations of the sudanian savanna: either relatively dry savanna, or more humid savanna like sub-permanent marshy-land or an area with recently created rice fields.

After 176 night catches on human beings it clearly appeared that:

— the transmission is seasonal everywhere and reaches a maximum between the middle of the rainy season and the beginning of the dry season;

— in the savanna *Anopheles gambiae* s.l. and *Anopheles funestus* are responsible for the main bulk of transmission but *Anopheles funestus* is less represented in the rice fields;

— in the relatively dry savanna the density of these 2 species is « low » (1 200 bites of vectors/man/year) and the transmission occurs at a rate of 55 infected bites between June and October;

— in the more humid savanna the density of anopheles is « intermediate » (7 000 bites/man/year) and the transmission is much higher: 133 infected bites from May to December;

— in the area of the rice fields the density of *Anopheles* is very high (14 000 bites/man/year) all year long; this is due to the irrigation for the cultivation of rice even during the dry season. The yearly inoculation rate and the period of transmission can paradoxically be compared to those in the dry savanna (50-60 bites from May to November).

Therefore the rice fields create an epidemiological paradox where the density of the vector is 10 times higher than the one in the nearby savanna but the sporozoite rate is 10 times lower so that the expected increase of malaria transmission does not occur. The causes of this situation are analysed and discussed.

This study shows the consequences of the modifications of the biotope by rice culture on the transmission of human malaria in the Western Africa savanna. The hydro-agricultural works have indeed brought about an important and permanent increase of anopheles densities but the expected increase of the transmission did not follow as a consequence.

REFERENCES

1. Carnevale P, Molinier M: Le cycle gonotrophique et le rythme quotidien de piqûres d'*Anopheles gambiae* et *Anopheles nili*. *Parassitologia*, 1980, 22, 173-185.
2. Chandler JA, Highton RP: The succession of mosquito species (Diptera, Culicidae) in rice fields in the Kisumu area of Kenya and their possible control. *Bull. ent. Res.*, 1975, 65, 295-302.

3. Coosemans M, Wéry M, Storme B, Hendrix L, Mfisi B : Epidémiologie du paludisme dans la plaine de la Ruzizi, Burundi. Ann. Soc. belge Méd. trop., 1984, **64**, 135-158.
4. Detinova TS : Méthodes à appliquer pour classer par groupes d'âge les Diptères présentant une importance médicale. OMS, Sér. Monogr., 1963, n° 47.
5. Hamon J, Adam JP, Grjebine A : Observations sur la répartition et le comportement des anophèles de l'Afrique équatoriale française, du Cameroun et de l'Afrique occidentale. Bull. OMS, 1956, **15**, 549-591.
6. Philippon B, Moucher J : Répercussions des aménagements hydrauliques à usage agricole sur l'épidémiologie des maladies à vecteur en Afrique intertropicale. Colloque international : L'eau et les activités agricoles, Paris, 3-5/3/1976. Cah. C.E. N. E. C. A., 3213.
7. Snow WF : The vertical distribution of flying mosquitoes (*Diptera : Culicidae*) near an area of irrigated rice-fields in The Gambia. Bull. ent. Res., 1979, **69**, 561-571.
8. Snow WF : Mosquito production and species succession from an area of irrigated rice fields in The Gambia, West Africa. J. trop. Med. Hyg., 1983, **86**, 237-245.
9. Surtees G : Effects of irrigation on mosquito populations and mosquito-borne diseases in man, with particular reference to rice fields extension. Int. J. environm. Stud., 1970, **1**, 35-42.

ÉTUDE RÉTROSPECTIVE
SUR LA MORTALITÉ DE L'ENFANT DE MOINS DE 5 ANS
DANS UNE ZONE RURALE
DE LA RÉGION DE BRAZZAVILLE (R. P. CONGO)

I. Taux et causes de mortalité.

Par B. CARME (*), H. GUILLO DU BODAN (**), J. F. MOLEZ (***)
& J. F. TRAPE (***) (****)

RÉSUMÉ

Une étude rétrospective longitudinale sur une cohorte de 1 003 enfants a permis de préciser les taux et les causes de mortalité de 0 à 5 ans dans une zone d'holoendémicité palustre en République Populaire du Congo.

Les taux de mortalité sont sensiblement inférieurs à ceux habituellement cités en Afrique Noire : la mortalité infantile (0-1 an), la mortalité néo-natale précoce et la mortalité entre 1 et 5 ans sont respectivement de 71 ‰, 13 ‰, 41 ‰ et 49 ‰. Sur 100 naissances vivantes, 93 enfants ont atteint l'âge de 1 an et 88 l'âge de 5 ans.

La mortalité est dominée par les causes directement liées à la grossesse (prématurité, pathologie obstétricale) et par les causes infectieuses avec en premier lieu la rougeole. Par contre, dans cette étude, aucun décès ne paraît devoir être attribué directement au paludisme.

Mots-clés : TAUX DE MORTALITÉ 0-5 ANS, CAUSES DE MORTALITÉ 0-5 ANS, RÉPUBLIQUE POPULAIRE DU CONGO, PALUDISME.

SUMMARY

A study about children mortality under 5 years old in a rural area of the People's Republic of the Congo.

I. Rates and causes of mortality.

A retrospective study of 1,003 children permits us to identify precisely rates and causes of mortality in children under 5 years old in a rural holoendemic malaria area of the People's Republic of the Congo.

The mortality rates are distinctly lower than those generally observed in tropical Africa.

(*) Chef du Service de Parasitologie de l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé, B. P. 2672, Brazzaville, R. P. Congo ; détaché du Service de Parasitologie et Médecine Tropicale (Pr. M. GENTILINI), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris.

(**) Médecin Volontaire du Service National, Centre Médico-Social de Linzolo, R. P. du Congo.

(***) Parasitologiste de l'ORSTOM, Centre ORSTOM de Brazzaville, B. P. 181, R. P. du Congo.

(****) Séance du 13 avril 1983.

Infant mortality (0-1 year) was found to be 71 ‰, mortinatalité 13 ‰, early neonatal mortality (0-7 days) 41 ‰ and mortality between 1-5 years, 49 ‰. Main causes of mortality are those related to pregnancy (prematurity, obstetrical pathology) and with infectious diseases particularly measles. On the other hand, no death seems to be attributable directly to malaria in this study.

Key-words: MORTALITY RATES 0-5 YEARS, CAUSES OF MORTALITY 0-5 YEARS, PEOPLE'S REPUBLIC OF THE CONGO, MALARIA.

INTRODUCTION

Une appréciation objective des problèmes sanitaires de l'enfant en milieu tropical suppose des statistiques précises sur la mortalité infantile.

Si les chiffres habituellement cités font état de taux de plus de 200 ‰ en Afrique intertropicale (12), les données disponibles, comme le précise ce même auteur, sont souvent sujet à caution, surtout en milieu rural où les registres de naissance et de décès, lorsqu'ils existent, sont peu fiables.

La rareté des études publiées sur ce sujet en Afrique centrale témoigne de ces difficultés et nous a incité à présenter les résultats d'une étude rétrospective sur 5 ans d'une cohorte de 1 003 enfants nés en 1976 au Centre Médico-Social de Linzolo, village situé à 30 km au sud-ouest de Brazzaville (R. P. Congo).

PRÉSENTATION DE L'ÉTUDE

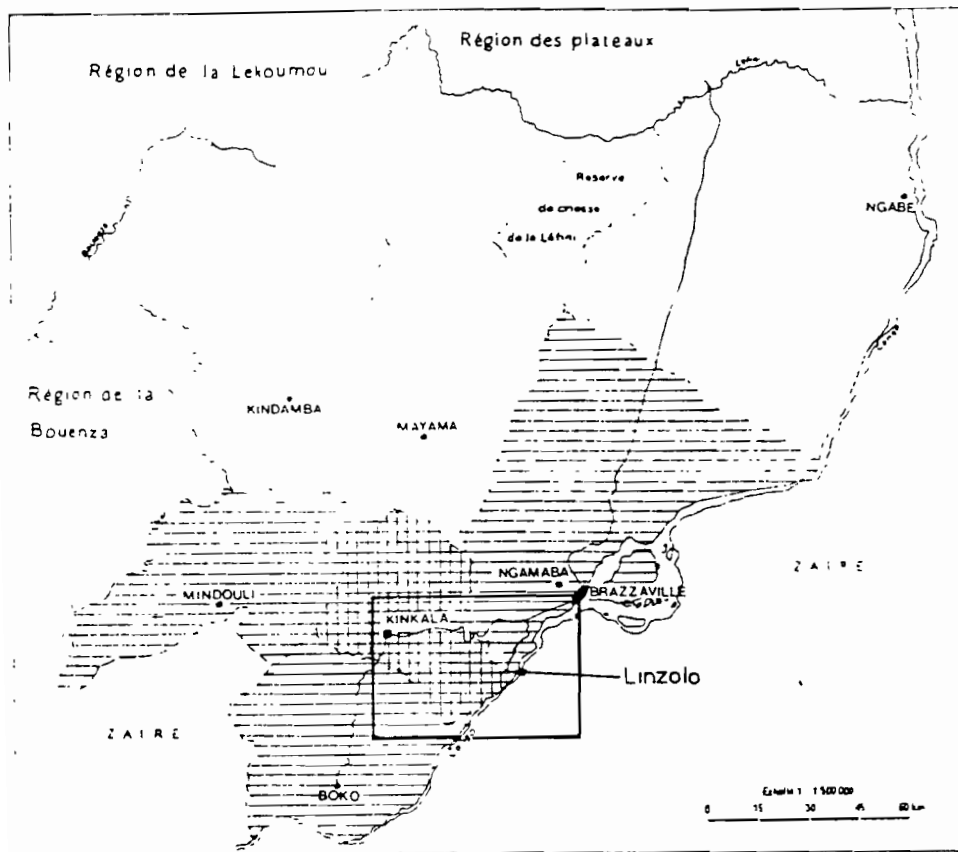
1. *Linzolo et la région du Pool.*

Le secteur desservi par le Centre Médico-Social de Linzolo (fig. 1), situé dans la région du Pool, regroupe une population d'environ 20 000 personnes sur une superficie de 1 500 km².

Cette région, située au sud-ouest de Brazzaville, recouvre partiellement 3 districts (Boko, Kinkala, Ngamaba) mais présente une grande unité culturelle, ethnique et linguistique.

Il s'agit d'une région fortement vallonnée où une savane arbustive remplace progressivement la forêt claire et les forêts galeries originelles très dégradées du fait du commerce du bois et de l'extension des cultures. Les cultures vivrières (manioc principalement, mais aussi arachides, ignames, maïs,...) et fruitières (ananas, bananiers, agrumes, avocats, safoutiers) constituent l'essentiel des activités agricoles. La pêche reste une activité importante le long du fleuve Congo. Les activités commerciales sont centrées sur la capitale. Seule la route Linzolo-Brazzaville est revêtue ; tous les villages situés en dehors de cette voie de communication sont d'accès difficiles, en particulier pendant la saison des pluies longue de 8 mois.


Une dizaine de dispensaires sont répartis sur ce secteur ; la plupart sont démunis de matériel et de médicaments. Trois d'entre eux possèdent quelques lits d'hospitalisation.



REGION DU POOL

DENSITE (hab./km²)

 < 5

 10 - 15


 > 15

Fig. 1. — Carte de la région du Pool (R. P. du Congo)

2. Le Centre Médico-Social de Linzolo.

Linzolo est la première mission catholique du Congo, créée en 1883, et dès 1920 un premier dispensaire s'ouvrit. Actuellement le Centre comporte 135 lits d'hospitalisation dont 55 lits pour la maternité. La direction du Centre est assurée par des religieuses infirmières. Il faut insister sur la bonne tenue des locaux, la

présence d'un matériel en bon état et une disponibilité en médicaments relativement large, grâce en partie à des dons extérieurs.

Une quarantaine de personnes travaillent au Centre, parmi lesquelles on note : 4 infirmières et 2 sages-femmes diplômées : 8 matrones accoucheuses, 2 monitrices sociales, 2 puéricultrices, 17 infirmiers non diplômés et agents techniques. Paradoxalement aucun médecin permanent, en dehors d'un coopérant volontaire du Service National en 1981, n'y est affecté.

Les activités sont essentiellement centrées sur la maternité et la pédiatrie. On compte en moyenne chaque année 1 000 accouchements et plus de 4 000 consultations de nourrissons et à peu près autant de femmes enceintes. Les registres sont bien tenus ; ils sont disponibles depuis 1949 pour les accouchements, depuis 1974 pour les consultations de grossesse, depuis 1979 pour les autres consultations et depuis 1980 pour les hospitalisations.

Il faut préciser que les conditions de surveillance de la grossesse, d'accouchement et de soins post-nataux sont relativement satisfaisantes. Sur les 976 mères ayant donné naissance aux 1 003 enfants enregistrés au CMSL en 1976, 892 ont été suivies pendant leur grossesse avec en moyenne une première consultation dès le courant du 5^e mois, et une moyenne de 4 visites. 52 accouchements seulement (soit 5,3 %) ont eu lieu à domicile ou dans un moyen de transport conduisant à la maternité. Dans tous les cas les enfants ont été examinés à la maternité du CMSL.

En ce qui concerne le suivi post-natal, signalons que la quasi-totalité des enfants sont nourris au sein et que la majorité d'entre eux sont suivis en PMI régulièrement la première année. La couverture vaccinale est satisfaisante pour le tétanos néonatal, les femmes enceintes étant systématiquement vaccinées, et pour la tuberculose (BCG chez l'enfant au cours du premier mois). Les autres vaccinations sont assurées de façon moins régulière (Tetraoq® avant le 6^e mois, Rouvax® entre 6 mois et un an).

3. Les modalités de l'enquête.

Il s'agit d'une enquête longitudinale d'une cohorte de 1 003 enfants, nés entre le 1^{er} janvier 1976 et le 31 décembre 1976 au Centre Médico-Social de Linzolo (CMSL).

Tous les renseignements concernant la grossesse et l'accouchement étaient disponibles dans les registres de la maternité.

Pour chaque enfant 2 fiches individuelles ont été établies :

— la première regroupe toutes les données concernant la grossesse et les conditions de naissance. Grâce aux différents registres disponibles, les renseignements suivants ont pu être précisés :

- . le nom de la mère, du père et de l'enfant,
- . le village d'origine,
- . la date et l'heure de l'accouchement,
- . le poids de naissance, les circonstances de l'accouchement et l'évolution au cours des premiers jours,
- . les antécédents obstétricaux et les conditions de surveillance de la grossesse :

— la deuxième est un questionnaire : décès de moins de 5 ans (Annexe I).

Parmi les 1 003 naissances, 648 ont été sélectionnées sur le critère géographique suivant : mère domiciliée, lors de l'accouchement, dans le secteur desservi par le CMSL. Les 355 naissances non prises en compte correspondent à des mères domiciliées soit à Brazzaville (317 cas), soit dans une autre région du Congo (38 cas) et ayant accouché à Linzolo au cours d'un déplacement temporaire.

L'enquête dans les villages, dans le but de retrouver les 648 enfants s'est déroulée entre le 15 décembre 1981 et le 15 janvier 1982, les mères et les enfants ayant été convoqués nominativement à l'avance par l'intermédiaire des chefs de village.

RÉSULTATS

Sur les 648 naissances, 93 soit 14,4 % n'ont pu être exploitées pour les raisons suivantes :

- familles émigrées hors du secteur de Linzolo entre 1976 et fin 1981 : 67 cas ;
- absence de la mère lors du passage : 15 cas ;
- renseignements erronés sur le village d'origine : 11 cas.

L'analyse des circonstances de l'enquête ne fournit aucun argument permettant de penser qu'il y ait une plus grande mortalité chez les enfants perdus de vue que chez les enfants enquêtés.

Ainsi les renseignements concernant les 5 premières années de la vie ont pu être recueillis pour 555 naissances.

1. Taux de mortalité.

Sur 555 naissances, 71 enfants soit 12,8 % n'ont pas atteint leur 5^e anniversaire. Les différents indices de mortalité sont représentés sur les figures 2 et 3.

On retiendra essentiellement :

- une mortalité de 13 ‰ ;
- une mortalité infantile de 71 ‰ représentée surtout par la mortalité néo-natale (naissance-7^e jour), 42 ‰ ;
- un quotient de mortalité 0-5 ans de 117 ‰ (64 décès pour 548 naissances vivantes).

2. Causes de mortalité.

Les causes des 71 décès enregistrés peuvent être réparties de la façon suivante :

— *les causes liées à la grossesse et/ou à l'accouchement.*

Elles représentent près de la moitié des cas avec 34 décès (soit 48 %).

- *morts-nés* : 7, soit 20 %, répartis comme suit :
- 2 procidences du cordon,
- 2 dystocies,

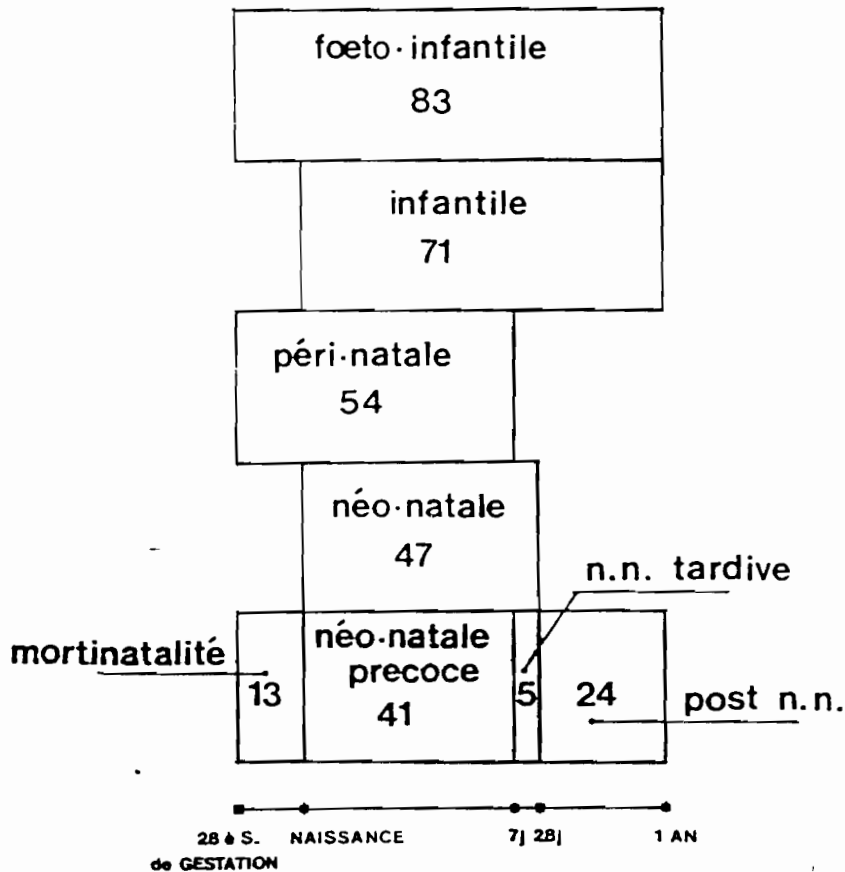


Fig. 2. — Taux de mortalité 0-1 an.

- 2 prématurés de moins de 1 500 g,
- 1 cause non déterminée.
- *prématurés et/ou hypotrophiques nés vivants* : 25 cas, soit 75 %. Il s'agit en fait ici plus de circonstances que d'une véritable cause.
- *détresse néo-natale* : 2 cas soit 5 %.

— *les autres causes.*

Elles regroupent les 37 autres décès (52 %).

Elles se concentrent essentiellement après 1 mois et sont dominées par les étiologies infectieuses avec en premier lieu la rougeole (15 décès soit 21,1 % de l'ensemble des décès et 40,5 % de ceux non liés directement à la grossesse et à l'accouchement). Les diarrhées viennent ensuite avec 4 cas. On relève une pneumopathie et une coqueluche.

La malnutrition (2 cas) et les anémies (3 cas, dont 2 sont en rapport avec une drépanocytose homozygote) sont à l'origine de 12,5 % des décès de ce groupe.

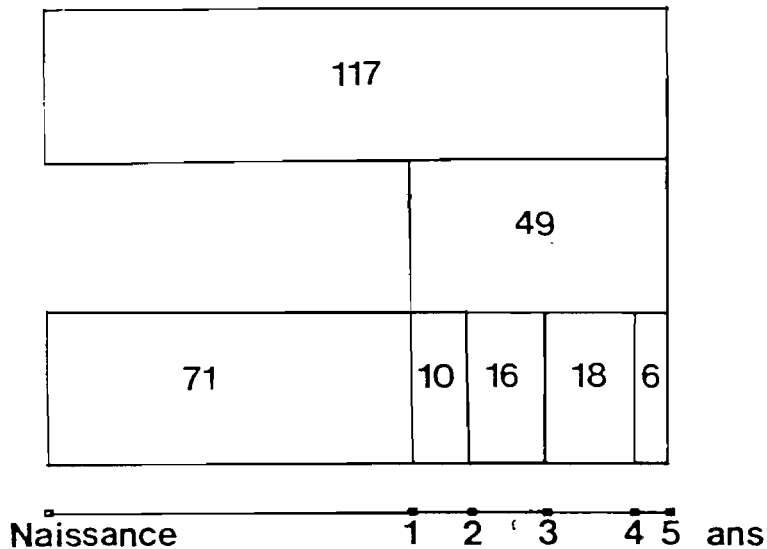


Fig 3 — Taux de mortalité 1-5 ans.

On retrouve par ailleurs 2 traumatismes et une mort subite. Les autres étiologies (8 cas) sont indéterminées mais ces décès sont survenus en dehors de tout syndrome fébrile ou convulsif.

DISCUSSION

Notre enquête fait état d'un taux de mortalité infantile de 71,2 ‰. Bien qu'il s'agisse d'une étude rétrospective, elle ne comporte pas le risque d'omission des décès par l'interrogatoire, comme dans les enquêtes habituelles. En effet, il ne s'agissait pas de demander à toutes les mères d'un village combien elles avaient perdu d'enfants, comme cela est le cas dans les enquêtes rétrospectives classiques. Pour chaque femme ayant accouché au CMSL en 1976, une fiche comportant le nom de leur enfant, le sexe, le poids de naissance et la date de celle-ci leur a été présentée. Il s'agissait alors de demander si cet enfant était vivant (et dans ce cas l'examiner), ou décédé (et dans ce cas remplir le questionnaire « décès de moins de 5 ans »).

Quoi qu'il en soit cette étude retrouve des taux de mortalité avant 5 ans nettement inférieurs à ceux habituellement admis dans cette région du monde.

La mortalité infantile en Afrique Noire est considérée comme l'une des plus élevée et se situerait en moyenne, d'après une étude de VALLIN (12) publiée en 1976, autour de 200 ‰.

La représentativité de notre échantillon nous paraît bonne dans la mesure où les enfants retrouvés à l'occasion de cette enquête constituent plus des 3/4 des enfants âgés de 4 à 5 ans vivant dans le secteur de Linzolo.

Ces résultats qui pourraient être attribués à l'efficacité propre du Centre

Médico Social considéré, ne semblent pas spécifique au secteur de Linzolo puisqu'une étude prospective en cours par l'ORSTOM dans la même région du Pool mais dans le secteur de Kinkala, à 70 km à l'ouest de Brazzaville, retrouve un taux de mortalité infantile de 62 ‰ (5).

Les taux de mortalité infantile obtenus à partir de statistiques officielles publiées récemment au Congo varient dans des proportions importantes tant à Brazzaville (58,9 ‰ en 1974 à 87 ‰ en 1979) (1,11) qu'en zone rurale où des chiffres de 250 ‰ ont été rapportés en 1977 (6). Les conditions d'enquête difficiles et souvent différentes rendent compte, tout au moins en partie, de ces imprécisions.

Le tableau I regroupe des résultats récents concernant des pays d'Afrique Noire non sahéliens.

TABLEAU I

*Taux de mortalité infantile en France
et dans 3 pays d'Afrique Noire Sud-sahélienne.*

Taux de mortalité (1)	Congo (2) Étude présentée	Rwanda (2) Réf. 7 1973-1974	Côte-d'Ivoire Réf. 4 1970	France	
				Réf. 8 1974-1977	Réf. 13 1978
Mortinatalité	13	13	32,9	6,9	
Mortalité néo-natale	47	53	28,8	6,9	
Mortalité infantile	71,2	120	62,6		11
Mortalité fœto-infantile	83	131	95,5		

(1) Mortalité ‰/‰.
(2) En zone rurale.

Dans notre étude la mortalité est dominée par les causes liées à la grossesse et/ou à l'accouchement, parmi lesquelles la prématurité représente 75 ‰, ce qui rend compte d'un taux relativement élevé de mortinatalité (13 ‰) et surtout de mortalité néo-natale précoce (41 ‰).

De plus, il est possible que ces taux soient sous-estimés, surtout pour la mortinatalité. En effet, certaines dystocies mettant en jeu la vie de la mère et se terminant presque toujours par un accouchement de mort-nés (épaule négligée, front et face enclavés,...) ont pu être évacuées sur Brazzaville vu l'absence de possibilités chirurgicales locales. Ces accouchements n'ont pas pu être enregistrés au CMSL.

Parmi les autres causes de décès, la moitié sont d'origine infectieuse avec une nette prédominance de la rougeole. Une enquête parallèle, effectuée chez 1 676 enfants de moins de 5 ans hospitalisés en 1980-1981 au CMSL (5), retrouve des taux comparables (10 décès sur 42 soit 24 ‰).

Les deux décès consécutifs à une drépanocytose témoignent de la fréquence de cette hémoglobinopathie au Congo : 20 % de sujets AS (9).

L'absence de décès par tétanos est à relever et s'explique par une couverture vaccinale spécifique satisfaisante dans la région de Linzolo.

Les étiologies indéterminées, qui représentent 22 % des décès entre 1 mois et 5 ans, correspondent à ceux pour lesquels l'interrogatoire de la mère n'a relevé ni fièvre, ni convulsions, ni rougeole, ni diarrhée, ni aucun symptôme faisant l'objet du questionnaire « Décès de moins de 5 ans ». Il semblerait que ces décès soient constitués principalement par la malnutrition et les anémies, si l'on tient compte des résultats obtenus au CMSL en 1981 au cours de l'enquête précédemment citée (5) où elles représentaient respectivement 19 % et 10 % des causes de mortalité enregistrée.

Bien que le nombre de décès soit trop faible pour permettre une analyse détaillée des autres étiologies, on remarque cependant qu'aucun décès ne semble devoir être attribué directement au paludisme.

Cette absence est remarquable car le paludisme dans cette région du Congo est caractérisé par une holoendémicité stable (2).

Une étude longitudinale en cours dans ce même village (TRAPE *et al.*, à paraître) montre notamment :

— une forte prévalence : indices plasmodiques, établis sur l'examen de 200 champs en goutte épaisse, de 76 % chez les enfants de 1-4 ans (effectif : 90) et de 77 % chez les écoliers de 5-14 ans (effectif : 397),

— une nette prédominance de *Plasmodium falciparum* qui est retrouvé, seul ou en association avec *P. malariae* et *P. ovale*, sur 96 % des lames positives,

— une forte intensité de transmission, sans variations saisonnières majeures, avec en moyenne plus d'une piqûre infectante par nuit et par personne pour *Anopheles gambiae*.

La rareté des formes sévères du paludisme dans cette région du Congo (10), si elle était confirmée, pourrait être la conséquence de l'acquisition très précoce d'une immunité stable et protectrice, du fait du caractère intense et permanent de la transmission. Cependant il existe une libre circulation assez importante de chloroquine dans cette région qui pourrait également expliquer ce phénomène.

Il est par contre possible que le paludisme soit un des facteurs responsables de la haute fréquence des prématurés et par conséquent du taux relativement important de mortalité périnatale retrouvé dans notre enquête.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Docteur VOULLAUME, Spécialiste de Gynécologie-Obstétrique. Médecin du Service de Santé des Armées qui a bien voulu relire notre manuscrit et apporter quelques critiques.

ANNEXE I

*Enquête mortalité.**Morbidité chez l'enfant de moins de 5 ans en milieu tropical.*QUESTIONNAIRE : DÉCÈS DE MOINS DE 5 ANS
UTILISÉ POUR L'ENQUÊTE LONGITUDINALE

Date du passage :	Renseignements fournis par :
Village :	— Mère

ENFANT DÉCÉDÉ

Nom :	Sexe : M/F
Prénom :	Date de naissance :
Village d'origine :	N° acte de naissance :
Nom du PÈRE :	
Nom de la MÈRE :	

DATE DU DÉCÈS :		AGE DU DÉCÈS :	
— 24 heures		1 à 2 ans	
J1 à J7		2 à 3 ans	
J8 à J28		3 à 4 ans	
1 à 6 mois		4 à 5 ans	
6 mois à 1 an		+ 5 ans	

SYMPTOMES AYANT PRÉCÉDÉ LE DÉCÈS	
L'enfant avait-il de la FIÈVRE?	OUI / NON
L'enfant avait-il des CONVULSIONS?	OUI / NON
L'enfant avait-il la ROUGEOLE?	OUI / NON
L'enfant TOUSSAIT-il?	OUI / NON
L'enfant avait-il des DIFFICULTÉS pour RESPIRER?	OUI / NON
L'enfant avait-il des VOMISSEMENTS?	OUI / NON
L'enfant avait-il la DIARRHÉE?	OUI / NON
L'enfant avait-il MAIGRI?	OUI / NON
L'enfant avait-il des GÈDÈMES?	OUI / NON
	du VISAGE
	des MEMBRES
L'enfant avait-il des SIGNES CUTANÉS?	OUI / NON
L'enfant avait-il des DOULEURS?	OUI / NON
	SIÈGE des douleurs :
AUTRES SYMPTOMES :	

RÉFÉRENCES

1. Bulletin Mensuel de la Statistique de la République Populaire du Congo. Ministère du plan. Centre National de la Statistique et des Études Économiques, n° 150, janvier 1980.
2. CARNEVALE (P.). — Le paludisme dans un village des environs de Brazzaville, R. P. Congo. Thèse Doct. État Sciences, n° 2175, Orsay, Paris Sud, 1979.
3. DUBOZ (P.). — Paludisme et démographie : l'enquête de Kinkala après un an d'observation. Rapport ORSTOM, Brazzaville, avril 1982.
4. DUTERTRE (J.) & NEPOTE VESINO. — La mortalité infantile dans un village rural ivoirien. *Med. Trop.*, 1978, 38, 95-97.
5. GUILLO DU BODAN (H.). — Contribution à l'étude de la morbidité et de la mortalité chez l'enfant de moins de 5 ans en milieu tropical. A propos d'une étude effectuée dans un secteur rural de la région de Brazzaville (République Populaire du Congo). Thèse Doct. Médecine, Université de Paris-Sud, juin 1982.
6. MBENZE (A.). — Environnement et Santé, Santé et Développement en République Populaire du Congo. Mémoire Diplôme, Université Marien-Ngouabi, Brazzaville, 1978.
7. MEHEUS (A.). — Étude de la mortalité infantile et de la mortalité de 1 à 4 ans chez les enfants de la génération de 1973 de la commune de Maraba, au Rwanda. *Afr. Med.*, 1974, 14, 57-59.
8. MERGER (R.), LEVY (J.) & MELCHIOR (J.). — Mortalité périnatale in : *Précis d'obstétrique*, 5^e édition, Masson éd., Paris, 1979, 718-719.
9. MICHEL (R.), CARNEVALE (P.), BOSSENO (M. F.), MOLEZ (J. P.), BRANDICOURT (O.), ZOULANI (A.) & MICHEL (L.). — Le paludisme à *P. falciparum* et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. I. — Prévalence du paludisme et du trait drépanocytaire en milieu scolaire dans la région de Brazzaville. *Med. Trop.*, 1981, 41, 403-412.
10. PEELMAN (P.). — Étude séro-immunologique de 19 cas d'accès pernicioeux à l'Hôpital Général de Brazzaville, République Populaire du Congo. Thèse Doct. État Médecine, Université de Paris-Ouest, mai 1982.
11. Recensement Général de la Population, R. P. du Congo, 1974. CNSEE. Direction des Statistiques Démographiques et Sociales, Brazzaville, 1978.
12. VALLIN (J.). — La mortalité infantile dans le monde. Évolution depuis 1950. *Population*, 1976, (4-5), 801-838. INED, Paris.
13. World Population, 1979. — Recent Demographic Estimates for the countries and regions of the world. U. S. Department of Commerce. Bureau of the Census, ISP. WP 79.

Different *Plasmodium falciparum* Recombinant MSP1₁₉ Antigens Differ in Their Capacities to Stimulate *In Vitro* Peripheral Blood T Lymphocytes in Individuals from Various Endemic Areas

O. GARRAUD*, A. DIOUF*, C. M. NGUER*, A. DIEYE*, S. LONGACRE§, D. C. KASLOWÚ, A. A. HOLDER§, A. TALL¶, J-F. MOLEZ**, R. PERRAUT* & O. MERCEREAU-PUIJALON††

*Unité d'Immunologie, †Laboratoire d'Epidémiologie du Paludisme, Institut Pasteur, **ORSTOM, Dakar, Sénégal; ‡Parasitologie Expérimentale, **Immunologie Moléculaire des Parasites, Institut Pasteur, Paris, France; †Laboratory of Parasitic Diseases, NIAID, NIH, Bethesda, MD, USA, and §National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, UK

(Received 7 October 1998; Accepted in revised form 27 November 1998)

Garraud O, Diouf A, Nguer CM, Dieye A, Longacre S, Kaslow DC, Holder AA, Tall A, Molez J-F, Perraut R, Mercereau-Puijalon O. Different *Plasmodium falciparum* Recombinant MSP1₁₉ Antigens Differ in their Capacities to Stimulate *In Vitro* Peripheral Blood T Lymphocytes in Individuals from Various Endemic Areas. Scand J Immunol 1999;49:000-000

This study reports on T-cell proliferative responses to the 19-kDa C-terminal domain of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein (MSP1₁₉). Three different recombinant proteins were used: an *Escherichia coli* product expressing the first EGF-like domain and *Saccharomyces cerevisiae* and baculovirus/insect-cell-produced proteins containing both EGF-like domains, the latter protein being produced with or without *N*-glycosylation. Cell donors were *P. falciparum*-immune adults with no recent history of clinical malaria and recruited from three Senegalese settings with different epidemiological parasite transmission. Each mononuclear-blood-cell preparation was stimulated with a range of concentrations of the three proteins. Most subjects' mononuclear cells were reactive to at least one protein, but significant differences in lymphoproliferation were seen between the settings and within individual cultures depending on the protein source and concentration. Importantly, lymphoproliferation indices correlated inversely with the intensity of *P. falciparum* malaria transmission. When purified T lymphocytes were cultured in the presence of MSP1₁₉ plus autologous monocytes, B lymphocytes or a proposed CD1⁺ dendritic-cell population as costimulatory cells, significant differences were observed depending on the individual's previous exposure to parasites. This study shows that the stimulation of lymphocyte proliferation *in vitro* with MSP1₁₉ depends on several factors, including epidemiological conditions and protein preparations.

O. Garraud, Unité d'Immunologie, Institut Pasteur, BP220, Dakar, Sénégal

INTRODUCTION

Immunity to *Plasmodium falciparum* malaria is acquired slowly after many infections and requires frequent boosting, probably with a number of heterologous strains. Parasite resistance to existing drugs is developing at an alarming rate and therefore an effective vaccine is urgently needed, since hundreds of millions of people are subjected to attacks of clinical malaria, and many of them are children who are at particular risk for severe malaria [1].

Several antigens (Ag) expressed at various stages of the parasite's life-cycle have been characterized as potential candidates for a subunit vaccine. The merozoite surface protein 1 (MSP1) Ag is one of the most well-characterized proteins in

several *Plasmodium* spp.; it has been identified as an important target of antimalarial immunity (reviewed in Refs 2, 3); and is considered to be one of the most promising molecules for the development of a vaccine against the asexual blood-stage parasite (reviewed in Ref. 4). Experimental malaria studies in rodents and primates, *in vitro* studies with *P. falciparum*, as well as epidemiological studies of *P. falciparum*-exposed individuals, have identified MSP1 as an important target of antimalarial immunity (reviewed in Refs 3, 4). As such, MSP1 would represent a valuable tool for dissecting T-cell responses to *P. falciparum* blood-stage Ags in populations of individuals differentially exposed to parasite Ags but clinically immune at the time of investigation.

© 1999 Blackwell Science Ltd

At the time of merozoite release and erythrocyte invasion, the MSP1 precursor (~200 kDa) is proteolytically cleaved into several fragments forming a complex on the parasite surface. Only the 19-kDa C-terminal polypeptide (MSP1₁₉) is carried into a newly infected erythrocyte, the remainder of the complex being shed from the parasite surface [5]. The highly conserved MSP1₁₉ fragment contains two epidermal growth factor (EGF)-like motifs [5] and is recognized by monoclonal antibodies (MoAbs) which inhibit parasite invasion of erythrocytes *in vitro* [6]. Parts of MSP1, and in particular the C-terminal region have been produced in various expression systems [7]. Immunization of nonhuman primates using various preparations of recombinant MSP1₁₉ and MSP1₄₂ led to inconsistent results in terms of protection against a live-parasite challenge ([7–11] Kaslow *et al.*, unpublished data; Longacre *et al.*, unpublished data).

These observations prompted us to examine responses to MSP1₁₉, which were made available using different production systems, and to compare T-cell responses in immune adults living in *P. falciparum*-endemic areas in Sénégal, where *P. falciparum* malaria transmission is highly variable depending on geographical and ecological conditions. The results of the present study provide data concerning: (i) the impact of different defined epidemiological conditions on the capacity of lymphocytes to proliferate *in vitro*, (ii) the ability of different preparations of recombinant MSP1₁₉ to stimulate T-cell responses in individuals repeatedly exposed to *P. falciparum* infections, (iii) the effect of protein concentration on *ex vivo* immune responses, and (iv) the potential role of different circulating costimulatory/antigen-presenting cells (APCs) in the induction of T-lymphocyte responses to MSP1 *in vitro*.

MATERIALS AND METHODS

Study sites and blood donors. Blood donors originated from three villages in *P. falciparum*-endemic areas in Sénégal, and from the blood bank at the Hôpital Principal de Dakar. Blood donations were obtained after informed consent and following approval of the protocol by the Ad Hoc Ethics Committee. The main characteristics of the study sites are described in Table 1. Apart from the ethnic composition of the popula-

Table 1. Main characteristics of individuals doing blood donation

Study site	Entomological infective rate*	Malaria transmission	Population (main ethnicity)
Dielmo†	200–300	Perennial	Serere
Ndiop†	20–30	Seasonal	Wolof
Barkedji†	100–200	Seasonal	Peuhl
Dakar†	0.1–10	Seasonal	mixed

*The entomological inoculation rate represents the number of infective bites/year/individual.

†Blood sampling in volunteer individuals has been performed in the dry season, where malaria transmission is either low (Dielmo) or virtually absent (other sites) [13, 15, 16, 18].

tions and the geographic locations, the main differences, with respect to the present study, were: (i) malaria transmission, which is restricted to the rainy season (July–November) in Ndiop and Barkedji, and perennial in Dielmo due to the presence of a permanent stream [12]; and (ii) the mean entomological inoculation rates (EIR) [12–16]. Of note, the villages of Dielmo and Ndiop are located in the same area and are 5 km apart. Both villages share agricultural activities and have comparable behaviour and food availability. Villagers from Dielmo and Ndiop have agreed to enter into a special research programme and none of the individuals enrolled in the present survey had been living in mosquito-net-equipped houses or taking malaria prophylaxis [15]. Blood donors from Dakar are far less well documented with respect to their exposure to *P. falciparum* since they frequently originate from diverse locations in Sénégal and migrate to the city where the EIR is estimated at 0.1–10 per year [16, 17].

Blood sampling. Blood sampling was performed in two different groups of adult (male and female) individuals in Dielmo and Ndiop, aged 25–55 years. The first group was bled twice (20 ml), once before and once after the rainy season, and the second group was bled only once, to obtain larger volumes (40 ml) suitable for cell fractionation. Blood sampling in Barkedji and Dakar was performed before the rainy season, at a time where transmission is either low or virtually absent.

Antigen preparations. Three different recombinant proteins were used in the present study: (i) a soluble baculovirus/insect-cell product corresponding in sequence to MSP1₁₉ (Uganda–Palo-Alto line) was produced with or without *N*-glycosylation (S. Longacre, I. Holm, F. Nato and C. Roth, manuscript in preparation), the production steps were similar to those described in Ref. 18, the nonglycosylated product was made in the presence of tunicamycin (2.5 µg/ml), as described previously [18]; (ii) a non-*N*-glycosylated protein corresponding to MSP1₁₉ (FVO line) was made in yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as described previously [19], and (iii) a recombinant protein comprising the first EGF-like motif of MSP1₁₉ (MSP1-EGF1, Wellcome/T9-94), was made in *Escherichia coli* as a glutathione *S*-transferase fusion protein, and subsequently cleaved from the carrier protein as described [20]. All protein concentrations were standardized using the BCA® kit (Pierce, Rockford, IL, USA), adjusted to 1 ± 0.1 mg/ml and subsequently diluted as appropriate.

Peripheral blood lymphocyte and APC preparations. Venous blood samples were collected into heparinized tubes and processed to recover peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) as described [21]. PBMCs were used either unseparated or fractionated into cell subsets. The T lymphocytes were selectively recovered from the sheep red blood cell (SRBC)-rosetting fraction; SRBCs were prepared at the Institut Pasteur in Dakar and sensitized by incubation with amino-ethyl-ethidium bromide, as described [22]. The nonrosetting PBMC fraction was first depleted of natural killer (NK) cells by incubation with an anti-CD56 MoAb (Immunotech, Marseille, France) followed by goat anti-mouse Ab-coated magnetic beads (Dynabead® from Dynal, Oslo, Norway). T cells were thus obtained from the SRBC-rosette-positive fraction, further depleted of CD56⁺ (NK) cells, CD19⁺, CD14⁺ and CD1c⁺ cells. B cells were obtained from the SRBC-negative, CD56-negative fraction, further depleted of remaining CD2⁺ and CD14⁺ cells, using appropriate magnetic beads (Dynabeads®), and of CD1c⁺ cells using an anti-CD1c MoAb (Immunotech) and goat anti-mouse Ab-coated magnetic beads (Dynabeads®) [23]. Monocytes and the proposed dendritic cell (DC) population were obtained by means of the same technique used for B cells, except that the rosette-negative, CD56-cell fraction was depleted of CD19⁺ and CD1c⁺, or CD19⁺ and CD14⁺ cells, respectively. The purity of cell fractions was checked by flow cytometry, using fluorescein isothiocyanate (FITC)- or PE-labelled

© 1999 Blackwell Science Ltd, *Scandinavian Journal of Immunology*, 49, 0

MoAbs against different epitopes from those used for coating the magnetic beads (Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA).

Lymphocyte proliferation assays. PBMCs ($2 \times 10^6/\text{ml}$) were cultured in RPMI-1640 medium (Sigma, St. Louis, MO, USA) supplemented with 10% heat-inactivated human AB serum (HTV, hepatitis B; Poste de Transfusion Sanguine, Institut Pasteur, France) which had no detectable anti-*P. falciparum* malarial Abs. PBMCs were seeded in 200 ml in flat-bottomed microtitre culture plates (Nuncion®; Nunc, Roskilde, Denmark), and exposed to various concentrations of protein for 6 days [24]. Controls consisted of unrelated proteins expressed in similar vectors (same concentrations). In certain experiments, a neutralizing rabbit antihuman interferon (IFN)- γ serum (1/200 vol/vol; a gift from Dr T. Nutman, Bethesda, MD, USA), or a control rabbit serum (Dr J. Thonnon, Dakar, Sénégal) were added. In experiments carried out using fractionated cells, 10^6 T lymphocytes/ml were cultured under similar conditions with 10^2 autologous cells/ml of the following phenotypes: CD14⁺/CD19⁻ (mostly DCs), CD14⁺/CD1c⁻ (mostly B cells), or CD19⁺/CD1c⁻ (mostly monocytes).

Eighteen hours before cell harvesting, half of the culture supernatant in each well was collected and frozen for later analysis of cytokine content, and fresh medium containing $1 \mu\text{Ci}$ of ^3H -thymidine (Amersham, Les Ulis, France) was added. Incorporation of radioactivity was measured using liquid scintillation counting. Results were expressed as stimulation indices (SI) calculated as the ratios of cpm measured in cultures with stimuli divided by the background cpm levels (triplicates).

Cytokine detection by ELISA. Cytokines, interleukin (IL)-10 and IFN- γ , were measured in individual PBMC culture supernatants using ELISA-kits purchased from Medgenex (Fleurus, Belgium). Briefly, capture MoAbs (2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in phosphate-buffered saline (PBS); 100 $\mu\text{l}/\text{well}$) were used to coat overnight (at 4 °C) Luxlon® ELISA plates (CML-CEB, France). Plates were washed with PBS containing 0.1% Tween-20 after each step. The plates were blocked for 2 h at room temperature (RT) with PBS containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 0.1% Tween-20. Individual culture supernatants (100 $\mu\text{l}/\text{well}$ of a 1/2 dilution) were added and incubated with 25 $\mu\text{l}/\text{well}$ of biotinylated anticytokine Ab (diluted 1/1000) for 4 h at RT with constant agitation. After washing, avidin-peroxidase conjugate (Boehringer Mannheim, Germany; diluted 1/50000) was added for 1 h at RT, with constant agitation. TMB/H₂O₂ (100 μl ; vol/vol) was added for 30 min at RT in the dark, followed by 50 μl of 1 M H₃PO₄ to stop the reaction. Absorbance was measured at 450 nm, and curves were integrated using the SOFT-max® computer program. The sensitivity of this assay is ~ 2 pg for both cytokines.

Specific serum antibody detection by ELISA. Anti-MSP1₁₉ IgG Abs were detected in individual plasmas by means of ELISA as described [25, 26]. Briefly, Immulon-4® (Nunc) were coated overnight (4 °C) with 50 $\mu\text{l}/\text{well}$ of any of the recombinant MSP1₁₉ (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in NaCO₃/Na₂CO₃, pH 9.6 buffer). After each step washing was performed using PBS containing 1% BSA and 0.1% Tween-20. Dilutions of plasma samples (in PBS containing 0.1% Tween-20; 50 $\mu\text{l}/\text{well}$) were added for 1 h at 37 °C and overnight at 4 °C followed by incubation for 1 h at 37 °C with peroxidase-conjugated anti-IgG (1/10 000; Cappel-Organon Technika, Turnhout, Belgium). Orthotolidine/H₂O₂ (100 μl ; vol/vol; Sigma) was added for 20 min at RT, followed by the addition of 100 μl 0.1N HCl to stop the reaction, and the absorbance was measured at 450 nm. Results are expressed as optical density (OD) ratios in order to minimize plate-to-plate and/or day-to-day variation; OD ratios were calculated as OD values obtained from each culture condition divided by OD values measured from a negative European serum pool (Institut Pasteur,

Pans, France). A positive control consisted of a pool of sera from immune individuals from the same locations.

Statistical analysis. Statistical analysis was performed using the Student's *t*-test for normally distributed values (serology) and the Mann-Whitney *U*-test for non-normal distributions (cellular responses). The percentage of responders in IgG Abs were compared by means of the χ^2 test. Statistical analysis, including the Box Plot analysis, was made by means of the Statview 4.1® software.

RESULTS

Immune responses to MSP1₁₉ in donors from *P. falciparum*-endemic areas

Plasma samples from immune adults in hyperendemic areas were assayed for the presence of IgG Abs specific to three variants of MSP1₁₉. The frequency of Ab reactivities in these individuals was comparable for all three Ags, and 12/15, 10/15 and 10/15 exhibited IgG Abs above the positive threshold (OD ratio ≥ 1.5) to the *E. coli*, the yeast and the baculovirus MSP1₁₉ preparations, respectively. Furthermore, no significant difference in IgG response intensity could be seen. Figure 1 shows a combined analysis of distribution and intensity of IgG responses to all three recombinant MSP1₁₉ molecules in 15 immune adults originating from Dielmo. Similar comparisons between responses to each MSP1₁₉ variant were obtained in individuals originating from Ndiop (data not shown). This indicates that all three antigenic variants contain dominant epitopes which are consistently recognized by individuals with immunity to *P. falciparum* blood stage.

We thus intended to examine the peripheral-mononuclear-cell (mostly T-cell) reactivity to each MSP1₁₉ variant in the same individuals. To set up the lymphoproliferation studies, we first

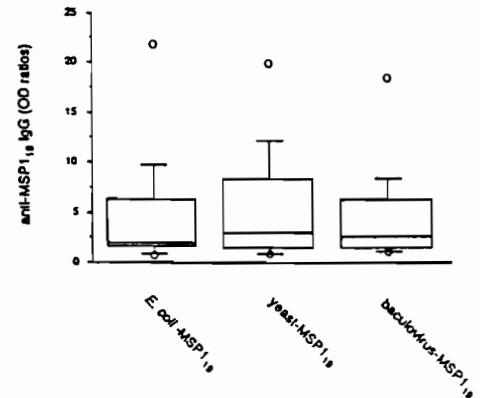


Fig. 1. Frequency, distribution and mean intensity level of IgG antibodies to recombinant MSP1₁₉ proteins expressed in three different vectors (*E. coli*, yeast and baculovirus/insect cells) in 15 immune adult donors originating from Dielmo where malarial transmission is permanent and intense. Data are presented as a box plot analysis.

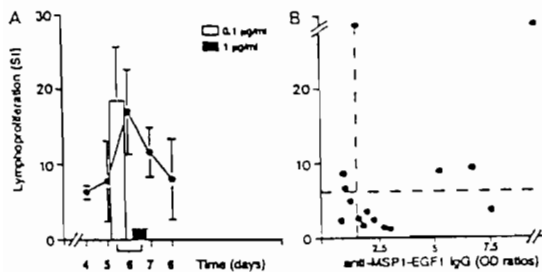


Fig. 2. Effect of recombinant *P. falciparum* MSP1-EGF1 on PBMCs obtained from 15 adult immune individuals in Dielmo. Results are expressed as lymphoproliferation/stimulation indices (SI). (A) Dose- and time-dependence for MSP1-EGF1 driven lymphoproliferation. Histograms represent means \pm SEM of SI when PBMCs were cultured for 6 days with different concentrations of protein. Dots represent means \pm SEM of SI when PBMCs were cultured with 0.1 μ g/ml over time. (B) Lack of correlation between lymphoproliferation and antibodies. Each dot represents the OD ratio of specific IgG anti-MSP1-EGF1 in the plasma against individual PBMC stimulation (SI). The dotted lines represent arbitrary cut-off for positive values (SI \geq 3; IgG > 1.5).

analysed PBMC responses in the same series of Dielmo donors after stimulation *in vitro* with various concentrations of the MSP1₁₉ variant expressed in *E. coli* (MSP1-EGF1). Measured lymphoproliferative responses (³H-thymidine incorporation) were first found to be time- and dose dependent (Fig. 2A). Six of 15 Dielmo individuals' PBMCs proliferated on stimulation upon the selected conditions *in vitro*, but as shown in Fig. 2B, there was no correlation between T-cell response and the presence of IgG in plasma. Similar results were obtained in individual cultures derived from 15 Ndiop donors' PBMCs (data not shown). PBMCs obtained from an equivalent number of expatriates with no documented history of malaria did not proliferate at any concentration of MSP1-EGF1, neither did they proliferate in the presence of the other MSP1 preparations under the scope of the present study (data not shown).

Potential influence of the source of MSP1₁₉ proteins on proliferation of peripheral blood lymphocytes from P.-falciparum-immune individuals

To examine the effect of different recombinant MSP1₁₉ preparations on lymphocyte responses *in vitro*, we evaluated their ability to stimulate lymphoproliferation of PBMCs recovered from *P.-falciparum*-immune adults living in areas with two different transmission conditions. Of note, no circulating parasite was detected in the blood of any individual tested in the present study (data not shown). PBMCs were exposed *in vitro* to 0.1 μ g/ml and 1 μ g/ml of recombinant MSP1₁₉ preparations derived from yeast, baculovirus/insect cells and *E. coli*.

There was a clear dose dependence of lymphoproliferative responses to recombinant MSP1₁₉ in individual cultures from

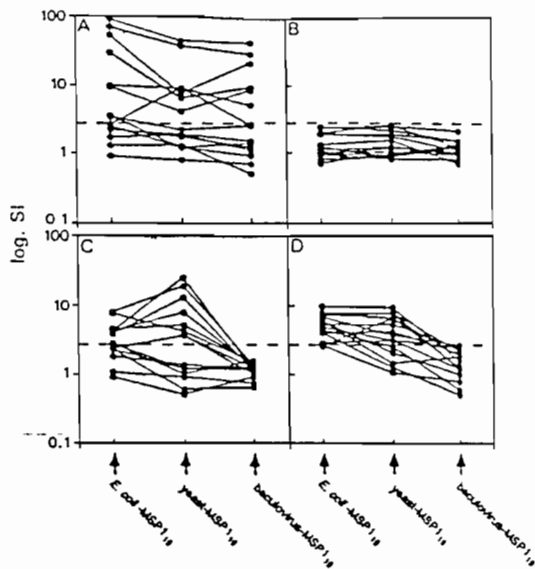


Fig. 3. PBMCs from individuals originating from Dielmo and Ndiop proliferate differentially depending on the protein concentration, its source, and the exposure of the donors to parasites (malaria transmission is intense and perennial in Dielmo and moderate and seasonal in Ndiop). Results are expressed as log SI. (A, B) PBMC cultures from Dielmo donors. (C, D) PBMC cultures from Ndiop donors. (A, C) Individual cultures in the presence of 0.1 μ g of each recombinant protein (indicated by arrows on the x-axis). (B, D) Individual cultures in the presence of 1 μ g of each recombinant protein. The dotted line represents the arbitrary cut-off for positivity (SI \geq 3).

Dielmo; six of 15 individuals' PBMCs proliferated consistently (SI \geq 3) when exposed to all recombinant proteins at low concentration (0.1 μ g/ml), with nonsignificant intra-individual variations (*P*-values ranging from 0.2 to 0.6) (Fig. 3A). However, when the same PBMCs were stimulated with a 10-fold higher concentration of any of the recombinant protein, no lymphoproliferative responses were observed (Fig. 3B).

In samples from Ndiop, different SIs could also be observed depending on which protein preparation was used to stimulate PBMCs at the same concentration (0.1 μ g/ml or 1 μ g/ml) (Fig. 3C). Nevertheless, differences between the yeast and *E. coli* proteins were not statistically significant, probably due to the wider distribution of SIs obtained using the yeast-protein preparation, which induced lower SIs in the negative (< 3) and higher SIs in the positive (\geq 3) individual cultures. When a 10-fold higher concentration of recombinant protein was used to stimulate PBMCs in samples from Ndiop, a significantly higher mean SI was observed in response to the *E. coli* versus the yeast-protein preparation (*P* < 0.01). No lymphoproliferative response was observed when PBMCs were stimulated with the baculovirus-expressed MSP1₁₉ preparation at either concentration under

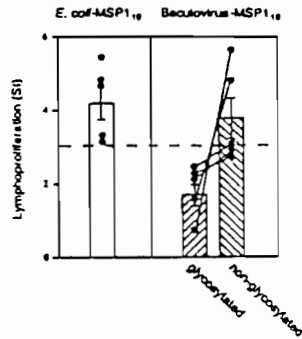


Fig. 4. Lymphoproliferative responses of PBMCs in the presence of glycosylated versus nonglycosylated MSP1₁₉ expressed in baculovirus/insect cells. Experiments were performed using cell preparations from individuals originating from Dakar, whose lymphoproliferative responses proved positive (SI \geq 3) in the presence of the *E. coli* preparation (left panel). Results are expressed as individual SI (dots) or mean \pm SEM SI (histograms and bars). Shown on the right panel are data obtained when PBMCs were exposed to 1 μ g/ml of normally glycosylated baculovirus-rAg preparation versus the nonglycosylated homologue, produced in the presence of tunicamycin. The dotted line represents the arbitrary cut-off for positivity (SI \geq 3).

these culture conditions (Fig. 3C, D). Of note, 67% of these individuals had plasma IgG specific to this epitope.

To determine whether higher concentrations of the baculovirus-expressed protein preparation could stimulate PBMCs from *P. falciparum*-immune individuals, an additional series of experiments was undertaken using PBMCs obtained from a limited number ($n=5$) of Dakar blood bank donors. These cells proved to be reactive *in vitro* in the presence of *E. coli* MSP1₁₉ at 1 μ g/ml as predetermined (mean SI, 3.6 ± 1.0), but not in the presence of the baculovirus preparation (Fig. 4). These PBMCs were then used to test for any differential effect of the 'naturally' glycosylated versus the tunicamycin-treated ('deglycosylated') version of the baculovirus recombinant protein. As can be seen (Fig. 4; right panel), some PBMC preparations from immune individuals were clearly capable of proliferating when stimulated with the deglycosylated baculovirus protein, but not with the protein normally glycosylated in this system ($P < 0.05$) while in the other cell preparations, the stimulation was moderately augmented. These results would suggest that *N*-glycosylation of the recombinant MSP1₁₉ may exert a negative effect on the induction of lymphoproliferation under these culture conditions.

PBMC lymphoproliferative responses in vitro to MSP1₁₉ are independent of IFN- γ production in P. falciparum-immune donors

Individual culture supernatants derived from the Dielmo immune donors' PBMCs stimulated with Ag were assayed for IFN- γ at different times. As can be seen (Fig. 5A), little IFN- γ was

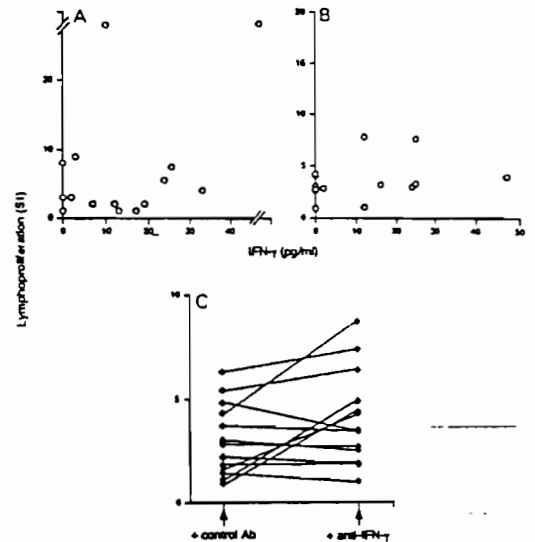


Fig. 5. T-cell responses *in vitro* to MSP1-EGF1 in clinically immune adults from Dielmo and Ndiop (A, B) or individuals with/without cellular immunity to this Ag in Dakar (C). (A, B) Lack of correlation between lymphoproliferation and IFN- γ production in Dielmo (A) and Ndiop (B). Each dot represents the level of IFN- γ (pg/ml) plotted against lymphoproliferation in individual cultures (MSP1-EGF1, 0.1 μ g/ml). (C) Lack of effect of neutralizing anti-IFN- γ Ab on lymphoproliferation. Shown are individual SI values when PBMCs from blood donors in Dakar were cultured in the presence of MSP1-EGF1 (0.1 μ g/ml) plus control rabbit Ab (5 μ g/ml) versus MSP1-EGF1 plus neutralizing anti-IFN- γ rabbit Ab (same concentration).

detected in 5-day culture supernatants in response to the *E. coli* MSP1-EGF1 stimulation (0.1, 1.0 or 10 μ g/ml) in contrast to control cultures, i.e. with 10 μ g/ml protein of *P. falciparum*-infected erythrocyte lysate (data not shown). A comparable pattern of IFN- γ responses was observed in Ndiop under the culture conditions shown in Dielmo (0.1 μ g/ml), and no significant modification was observed on stimulation with the protein concentration which led to maximum ³H-thymidine incorporation (1 μ g/ml; Fig. 5B). Similar findings were obtained upon PBMC stimulation with other MSP1₁₉ preparations at any concentration (not shown). Of note, little IL-10 was produced in a limited number of individual cultures with no association with proliferative responses (not shown).

To further examine whether poor MSP1-proliferative responses could nevertheless be attributed to the presence of IFN- γ (such as bound to specific receptors), PBMCs obtained from 13 individuals living in Dakar, with either low or negative lymphoproliferative responses, were stimulated with MSP1₁₉ in the presence or absence of neutralizing anti-IFN- γ Ab known to be efficient in comparable culture conditions [27]. As can be seen in Fig. 5C, six of the 13 individuals had increased proliferation, another six showing no change and one showing a loss, thus

suggesting a trend towards increasing proliferation, although no significant increase of ^3H -thymidine incorporation could be detected (at day 6), thus corroborating the IFN- γ production data. Of note, no correlation was found between the capacity of individual PBMCs to secrete IFN- γ *in vitro* upon stimulation with Ag and the plasma level of IgG specific to this Ag

Influence of previous parasite exposure on proliferation of peripheral blood lymphocytes from P. falciparum-immune individuals in response to MSP1₁₉ in vitro

It has been shown (Fig. 3) that the three protein preparations differed in their capacity to induce lymphoproliferative responses, depending on both protein concentration and the source of cells. This prompted us to examine the effect of parasite transmission and exposure as an explanation for the differences observed in *ex vivo* assays. Blood was obtained from individuals in Barkedji, a third area where malaria transmission is seasonal, as in Ndiop (in contrast to Dielmo), and where the EIR is comparable with that in Dielmo (100–200 versus 200–300; Table 1).

PBMCs from individuals in Barkedji were induced to proliferate *in vitro* in the presence of all three protein preparations (0.1 and 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Nevertheless, there was a significant difference between the mean SI for cultures obtained from individuals in Dielmo versus Ndiop and Barkedji villagers. In this analysis, mean SI and SEM have been calculated from results with individuals having shown a lymphoproliferative response to at least one protein preparation at either concentration. Data obtained from 9/15 (Dielmo), 13/15 (Ndiop) and 9/14 (Barkedji) individual cultures have been included in the comparison. As can be seen in Fig. 6 for all three protein preparations at either concentration, there was no difference between Barkedji and Ndiop cultures, whereas Dielmo cultures generally differed significantly from the other two. In addition, Fig. 6 shows that PBMCs from sensitized individuals (responders) from Dielmo showed maximum ^3H -thymidine incorporation after stimulation *in vitro* with 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of any of the three protein preparations.

To examine whether the time of sampling affected the measured lymphoproliferative responses to MSP1, a number of donors was tested a second time immediately following the rainy season, i.e. at the end of the period when malaria transmission is the most intense. As recorded previously (Dièye *et al.*, unpublished data), most PBMC cultures obtained at this time were characterized by an extremely elevated level of spontaneous ^3H -thymidine incorporation, without specific stimulation, in samples from both Dielmo and Ndiop (not shown). In a number of individual cultures performed with PBMCs from Ndiop donors, there was no difference in lymphoproliferation in the presence of 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of the *E. coli*-derived protein before and after the rainy season (mean SI: 2.4 ± 0.7 versus 3.0 ± 1.1 , respectively); in contrast, there was a significantly diminished lymphoproliferation in the presence of 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ before and after the rainy season (4.7 ± 0.4 versus 2.1 ± 1.0 ; $P < 0.5$). It is possible that PBMCs obtained from immune individuals

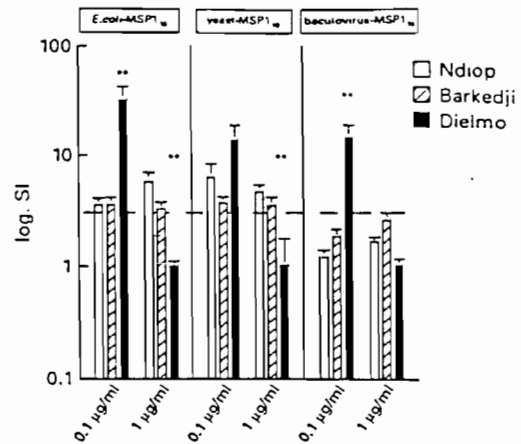


Fig. 6. Lymphoproliferation in response to all three recombinant MSP1₁₉ preparations depends on previous parasite exposure. PBMCs obtained from individuals living in Dielmo (dark histograms, $n = 9$), Ndiop (white histograms, $n = 13$) and Barkedji (hatched histograms, $n = 9$) were stimulated with each protein preparation (0.1 and 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Epidemiological conditions for the three sites are as follows: intense and perennial transmission in Dielmo, intense and seasonal transmission in Barkedji, moderate and seasonal transmission in Ndiop. In this experiment, individuals were selected on the basis of a previously determined lymphoproliferative response to at least one MSP1 preparation. Asterisks indicate the statistical significance (** $P < 0.01$). The dotted line represents the arbitrary cut-off for positivity (SI ≥ 3).

immediately after an intense exposure to parasites *in vivo* might require lower protein concentrations to induce optimal lymphoproliferation *in vitro*, compared with PBMCs obtained before the malaria transmission period. The data obtained in this series of experiments do not favour this hypothesis, although the limited number of individuals precludes any definite conclusion. Of note, in contrast to proliferative responses, there was a significant modification in IgG₁/IgG₃ responses to MSP1₁₉ in Dielmo, unlike in Ndiop following the rainy season (Diallo *et al.*, manuscript in preparation).

Blood T lymphocytes from P. falciparum-immune donors from Dielmo and Ndiop are not equally costimulated in vitro by autologous cells which can present antigen in the presence of MSP119

To examine whether use of different APC subsets might account for certain differences in lymphoproliferation observed in Dielmo and Ndiop donor PBMCs in response to MSP1₁₉, purified subsets of T lymphocytes, CD14⁺ monocytes, CD19⁺ B cells and CD1c⁺ cells (mostly DCs) were obtained by magnetic fractionation with a purity ranging from 96 to 99% (data not shown).

T cells (CD4⁺ and CD8⁺) were mixed with purified APCs in a

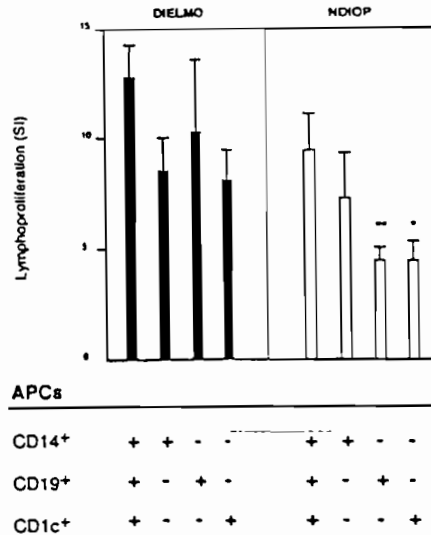


Fig. 7. Lymphoproliferative responses of T lymphocytes obtained from Dielmo and Ndiop villagers ($n = 15$ in the two sites), in the presence of MSP1-EGF1 ($1 \mu\text{g/ml}$) and various autologous APC populations (ratio, 1:10). In Dielmo, *P. falciparum* malaria transmission is intense and perennial, whereas it is moderate and seasonal in Ndiop. Results are indicated as SI. Culture conditions are indicated in the bottom part of the figure. The first histograms in each panel represents unfractionated PBMCs as controls; CD14⁺, CD19⁺ and CD1c⁺ indicate the phenotypes of the APC populations. Asterisks indicate the statistical significance (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).

predefined 10:1 ratio, a concentration that favoured optimal proliferation in the presence of either an unseparated APC preparation containing monocytes, B cells and CD1c⁺ cells, or purified monocytes, in a series of preliminary experiments (data not shown). T cells and selected APCs (CD14⁺, CD19⁺ or CD1c⁺ cells) were then cultured with $0.1 \mu\text{g/ml}$ protein for 6 days, a protein concentration also shown previously (Fig. 3A, C, Fig. 6: left panel) to induce Dielmo and Ndiop donor PBMCs to proliferate. Shown in Fig. 7 are mean SI \pm SEM of 15 individual experiments. In cultures from Dielmo donors, no significant difference in lymphoproliferative response was observed between experiments with unfractionated PBMCs and those where CD14⁺ monocytes, CD19⁺ B cells or CD1c⁺ cells were used as APCs. In individual cultures from Ndiop donors, there was no significant difference in response between unfractionated PBMCs and T cells plus CD14⁺ monocytes; in contrast, T cells with either CD19⁺ B cells or CD1c⁺ cells gave significantly lower ³H-thymidine incorporation signals ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively). In a limited number of experiments, similar findings were observed when $1 \mu\text{g}$ of recombinant protein was used to costimulate Ndiop individuals' T lymphocytes with a substantially more important proliferative response in the presence of CD14⁺ monocytes than CD19⁺ or CD1c⁺ cells (data not shown).

© 1999 Blackwell Science Ltd, *Scandinavian Journal of Immunology*, 49, 0

Although the APC:T cell ratio was not standardized for CD19⁺ and CD1c⁺ cells, unlike for CD14⁺ monocytes, there was a difference between the data obtained from Dielmo and Ndiop donors under similar lymphocyte culture conditions and Ag stimulation *in vitro*. This emphasizes a differential regulation of T-cell responses *in vitro* in individuals originating from different settings and having different degrees of immunity.

DISCUSSION

Recombinant MSP1₁₉ proteins obtained in different production systems and representing potential vaccine candidates in humans were used to analyse PBMC and T-lymphocyte responses *in vitro* in individuals differentially exposed to *P. falciparum*. Although they were clinically immune, these individuals likely had various degrees of specific immunity to *P. falciparum* blood-stage Ags and they also showed differing responses to MSP1₁₉ by having, or not having, cellular and/or Ab responses to different epitopes of this Ag. Furthermore, the extent to which such Abs are 'protective' is not yet fully understood.

MSP1₁₉-induced lymphoproliferation was proved to be dependent on several parameters such as the protein concentration, the expression system for these proteins and the individuals' exposure to *P. falciparum*. A possible explanation for the latter parameter would involve a differential role of costimulatory/Ag-presenting cells, data substantiated by *in vitro* experiments in which purified T lymphocytes from individuals with different degrees of immunity were costimulated with recombinant MSP1₁₉ in the presence of autologous monocytes, B lymphocytes or proposed DC subpopulations.

Some of the differences between individuals in the present study related to ethnicity, which however, did not affect behaviour and habits in villages, especially in Dielmo and Ndiop, in contrast to other studies related to the same topics [28]. In a recent study by our group, it was shown that these villagers do not have significant differences in HLA allele frequency [29]. So far, no association has been found between HLA genotype and mild malaria in contrast to the association with severe malaria [30, 31], and there is no conclusive evidence for an HLA-linked specific response to human malaria [32, 33]. This does not preclude any definite conclusion with respect to genetic loci other than MHC, although none has yet been reported to affect immune responses to *P. falciparum* Ags.

The recombinant proteins used in this work were produced in three different systems. The expression system might influence the conformation of the recombinant protein [7]. Also, the systems differ in the extent to which they carry out post-translational modifications (for example, the absence of *N*-glycosylation in *E. coli*) and possibly form different tertiary and quaternary structures. The yeast and baculovirus MSP1₁₉ preparations both contained the two EGF-like motifs, while protein made by *E. coli* comprised only the first motif. The differences observed in the intra-individual comparison could thus relate to: (i) the EGF-like motif content of the proteins; (ii) glycosylation; (iii) conformation and folding; and possibly (iv)

the amino acid content, since the parasite origins of the recombinant proteins were different. Data obtained from individual PBMC cultures showed distinct profiles of lymphoproliferation *in vitro*, which were likely to depend primarily on the concentration of protein used to stimulate the cells and on the study site, and secondarily on the preparation such as content of EGF-like motifs and glycosylation. The majority of T-cell epitopes are considered to be linear and presented to T cells as short sequences after Ag processing. Provided that *in vitro* data suggest a role for conformation, this conformation of MSP1 molecules would thus affect the processing by professional APCs. Data presented from Dielmo, Ndiop and Barkedji donors suggest that, in general, the more individuals (all of them being considered 'immune', however) are exposed to *P. falciparum* infection, the less protein seems necessary to induce lymphoproliferation of their cells *in vitro*. A substantial proportion of individuals having apoptotic PBMCs *in vitro* has been reported for individuals living in Dielmo, probably reflecting their frequent encounter with parasites *in vivo* [21]. Of note, the extent of proliferation (*E. coli* > yeast > baculovirus/insect-cell product), seemed to inversely mirror the expected ease of B-cell epitope formation (baculovirus and/or yeast > *E. coli*) [34–37] and seemed to be independent of IFN- γ production. The data obtained for each Ag preparation were quite different and it is probably overly simplistic to conclude that the one giving the highest level of responsiveness *in vitro* is the most relevant, other studies are required to address this issue more specifically. Unlike T-cell responses, Ab responses at the time of sampling for T-cell assays appeared relatively homogeneous between the various settings despite the different patterns of exposure to parasite. Of note, it cannot be excluded that cytokines other than IFN- γ and IL-10 accompany T-cell proliferation as has been reported in response to other Ags [38], although IL-4, for example, was not found in a parallel study by our group in response to MSP1₁₉, unlike in control stimulated T-cell cultures (Diallo *et al.*, manuscript in preparation). This emphasizes the proposed extremely complex regulation of T-dependent B-cell responses to malaria protein Ags which are likely to be poorly immunogenic [39].

The observation that PBMCs in individuals originating from one village could be stimulated *in vitro* with 10-fold lower Ag concentrations than those from a second village prompted us to investigate some of the mechanisms that might be responsible. One of the major differences between individuals from these two villages is their apparently different immunity to *P. falciparum*. It can be speculated that immune individuals from Dielmo and Ndiop may have different levels of circulating memory T cells and B cells, although this is difficult to confirm by *ex vivo* analyses. This study, however, attempted to examine *in vitro* the costimulatory role of cells which can act as APCs, when PBMCs from Dielmo and Ndiop were stimulated with the same concentration of a defined MSP1 preparation. In this study, it was shown that in immune adults continuously exposed to *P. falciparum* infection (i.e. Dielmo residents), CD19⁺ B lymphocytes and CD1c⁺ cells could costimulate *in vitro* MSP1-reactive T cells

in a manner comparable with CD14⁺ monocytes and/or unfractionated APCs using a defined APC:T-cell ratio. Although a discrete phenotype has not yet been determined conclusively for human DCs, there is good evidence that they express surface molecules of the CD1 family [40, 41]. In addition, CD1c has been reported to delineate between mature and functional (CD1c⁺), and immature (CD1c⁻) human blood DCs [42, 43]. In contrast, in immune adults seasonally exposed to *P. falciparum* infections (Ndiop), although blood CD19⁺ B lymphocytes and CD1c⁺ cells could efficiently costimulate MSP1-reactive T cells causing lymphoproliferation, their efficiency was significantly lower than that of CD14⁺ monocytes and/or unfractionated APCs at the APC:T-cell ratio used. Although this ratio was selected on the basis of monocyte costimulation of reactive T cells in preliminary sets of experiments and might have been different for each APC tested, significant differences could be observed between Dielmo and Ndiop, suggesting a differential use of various APC to costimulate MSP1-reactive T cells *in vitro*, depending on transmission conditions. These data indicate that whether the [T:CD19+B] or [T:CD1+DC] ratio is 'optimal' in *in vitro* stimulations, T cells in Dielmo and Ndiop are differentially costimulated by a defined concentration of recombinant protein Ag to which they proved responsive when 'presented' by a defined APC population. It could be hypothesized that in the blood of individuals whose immune system is permanently boosted by parasite infection, there are more recirculating MSP1-specific memory B lymphocytes than in individuals who have not been recently boosted. Such memory B lymphocytes, which bind Ag through their specific BcR, would require a minimal concentration of protein for activation and differentiation [43–46] compared with monocytes, which are likely to require larger amounts of antigen for efficient presentation [47]. Indeed, a 10-fold lower protein (MSP1-EGF1) concentration was necessary to optimally induce lymphoproliferation by PBMCs obtained from Dielmo residents compared with those from Ndiop. Unlike B cells and monocytes, DCs (which have all the characteristics of very efficient APCs [47, 48]) preferably prime naïve T cells when stimulated with peptides in preference to proteins [49–51]. They have also been described as differentially costimulating naïve and memory T cells [48, 52–54]. Alternatively, a difference could be seen between the costimulatory activity of circulating DCs in Dielmo and Ndiop in the absence of exogenous cytokines such as granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF). Together, the data presented here suggest that the differential effects observed *in vitro* in T cells stimulated with Ag and various APC populations, depend on the degree of acquired immunity *vis à vis* this Ag and the pathogen from which it is derived.

These data addressed the issue of whether, and under what conditions, it is possible to make sense of *in vitro* T-cell responses to a well-defined and extensively studied *P. falciparum*-malaria blood-stage protein (MSP1₁₉), provided that this protein, a T-dependent antigen, usually elicits good IgG Ab responses with apparent subclass restriction in immune individuals (IgG₁ > IgG₃ and little or no IgG₂ and/or IgG₄)

© 1999 Blackwell Science Ltd, *Scandinavian Journal of Immunology*, 49, 0

([25] Diallo *et al.*, manuscript in preparation). The main findings in this study were: (i) Ab responses did not correlate with *in vitro* T-cell responses to the same epitopes, (ii) proliferation correlated with *P. falciparum* transmission, and (iii) T-cell proliferative responses varied between settings (i.e. areas with different endemicities) and depended concomitantly on the antigenic protein source and concentration. The latter finding seemed to relate to a different use of APCs in relation to the individual's previous exposure to the parasite. There is still a gap to fill if we are to fully understand the cognate interaction of T cells and B cells activated with MSP1₁₉ with respect to anti-MSP1₁₉ Ab production, and what are the molecular and cellular mechanisms which regulate the ultimate processes. The role of the protein conformation and post-translational changes in the immunogenicity of such a protein is also a critical issue with a vaccinological perspective to this protein in particular and to *P. falciparum* blood-stage (and likely other) proteins in general. Although the present approach was not able to satisfactorily answer these questions, our study has addressed a number of questions which might be taken into consideration to select vaccinating Ags by screening naturally primed individuals.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge the villagers from Dielmo, Ndiop and Barkedji, as well as medical officers in these villages. They are indebted to L. Holm and F. Nato for assistance in preparing recombinant antigens and antibodies for purification. They thank Drs J.-F. Trape and D. Fontenille (ORSTOM, Dakar), C. Rogier, A. Spiegel, J. Thonnon, C. Roussilhon, A. Touré-Baldé, J.L. Sarthou, G. Raphenon (Institut Pasteur, Dakar) and G. Michel (Hôpital Principal de Dakar), for their help in obtaining blood samples and relevant information. They are grateful to Dr J.P. Moreau (Institut Pasteur, Dakar) for support, and to Drs G. Milon, P. Dubois and C. Behr (Institut Pasteur, Paris), L.H. Miller, T.B. Nutman and J.A. Berzovsky (NIH, Bethesda, USA) for helpful suggestions. Field work in Sénégal was supported by a grant from the Ministère Français de la Coopération et d'Action Culturelle (Paris, France). Additional support was provided by grants from the European Commission (contracts TS*2CT 90-0312 and TS*CT 94-0272).

REFERENCES

- WHO. A Global Strategy for Malaria Control. Geneva: World Health Organisation, 1993.
- Holder AA, Riley EM. Human immune response to MSP-1. *Parasitol Today* 1996;12:173-4.
- Long C, Daly TM, Kima P, Shrivastava I. Immunity to erythrocytic stages of malaria parasites. *Am J Trop. Med. Hyg.* 1994; 50:27-32.
- Pasloske BL, Howard RJ. The promise of asexual malaria vaccine development. *Am J Trop. Med. Hyg.* 1994;50: 3-10.
- Blackman MJ, Ling IT, Nicholls SC, Holder AA. Proteolytic processing of *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein-1 produces a membrane-bound fragment containing two epidermal growth factor-like domains. *Mol Biochem Parasitol* 1991;49:29-34.
- Chappel JA, Holder AA. Monoclonal antibodies that inhibit *Plasmodium falciparum* invasion *in vitro* recognise the first growth factor-like domain of merozoite surface protein-1. *Mol Biochem Parasitol* 1993;60:303-12.
- Chang SP. Expression systems that best mimic native structure: which ones to try first and why? *Am J. Trop. Med. Hyg.* 1994;50:11-19.
- Chang SP, Case SE, Gosnell WL, *et al.* A recombinant baculovirus 42-kilodalton C-terminal fragment of *P. falciparum* merozoite surface protein 1 protects Aotus monkeys against malaria. *Infect Immun* 1996;64:253-61.
- Burghaus PA, Wellde BT, Richards RL, *et al.* Immunization of *Aotus nancymai* with recombinant C terminus of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 in liposomes and alum adjuvant does not induce protection against a challenge infection. *Infect Immun* 1996;64:3614-19.
- Kumar S, Yadava A, Keister DB, *et al.* Immunogenicity and *in vivo* efficacy of recombinant *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein-1 in Aotus monkeys. *Mol Med* 1995;1:325-32.
- Lakshman Perera KLR, Handunneti SM, Holm I, Longacre S, Mendis K. Baculovirus merozoite surface protein 1-C-terminal recombinant antigens are highly protective in a natural primate model for human *P. vivax* malaria. *Infect Immun* 1998;66:1500-6.
- Fontenille D, Lochouart L, Diagne N, *et al.* High annual and seasonal variations in malaria transmission by anophelines and vector species composition in Dielmo, a holoendemic area in Sénégal. *Am J Trop Med Hyg* 1997;56:247-53.
- Lemasson J-J, Fontenille D, Lochouart L, *et al.* Comparison of behavior and vector efficiency of *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis* (Diptera: Culicidae) in Barkedji, a sahelian area of Sénégal. *J Med Entomol* 1997;34:396-403.
- Trape J-F, Rogier C, Konate L, *et al.* 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 Sénégal. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:123-37.
- Rogier C, Trape J-F. Etude de l'acquisition de la prémunition en zones d'holo et mésoendémie palustre à Dielmo et à Ndiop (Sénégal): résultats préliminaires 1990-94. *Méd Trop* 1996;55:71-6.
- Trape JF, Lefevre-Zante E, Legros F, *et al.* Malaria morbidity among children exposed to low seasonal transmission in Dakar, Sénégal and its implications for malaria control in tropical Africa. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:748.
- Trape J-F, Rogier C. Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission. *Parasitol Today* 1996;12:236-40.
- Longacre S, Mendis KN, David PH. *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 C-terminal recombinant proteins in baculovirus. *Mol Biochem Parasitol* 1994;64:191-205.
- Kaslow DC, Hui G, Kumar S. Expression and antigenicity of *Plasmodium falciparum* surface protein (MSP1₁₉) variants secreted from *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biochem Parasitol* 1994;63:283-9.
- Burghaus PA, Holder AA. Expression of the 19-kilodalton carboxy-terminal fragment of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 in *Escherichia coli* as a correctly folded protein. *Mol Biochem Parasitol* 1994;64:165-9.
- Touré-Baldé A, Sarthou J-L, Arbot G, *et al.* *Plasmodium falciparum* induces apoptosis in human mononuclear cells. *Infect Immun* 1996;64:744-50.

- 22 Garraud O, LeGrand E, Eghbali H, Hæmi-Simon G, Hæmi B, Guillemain B. Interleukin-2 receptor is functionally linked with *in vitro* activation of B cells isolated from non-Hodgkin's lymphomas. *Diag Clin Immunol* 1988;5:417-20.
- 23 Garraud O, Nkenfou C, Bradley JE, Nutman TB. Differential regulation of antigen-specific IgG4 and IgE antibodies in response to recombinant filarial proteins. *Int Immunol* 1996;8:1841-8.
- 24 Dieye A, Heidrich HG, Rogier C, et al. Lymphocyte response *in vitro* to *Plasmodium falciparum* merozoite antigens in donors from a holoendemic area. *Parasitol Res* 1993;79:629-33.
- 25 Nguer CM, Diallo TO, Diouf A, et al. *Plasmodium falciparum*- and Merozoite Surface Protein 1-specific antibody isotype balance in Senegalese immune adults. *Infect Immun* 1997;65:4873-6.
- 26 Nguer CM, Diouf A, Diallo TO, et al. Anticorps spécifiques de *Plasmodium falciparum* chez les sujets immuns: II- Cntblage des réponses vis à vis d'un antigène majeur de la surface des mérozoïtes (MSP1). *Dakar Méd* 1997;42:106-10.
- 27 Garraud O, Perler FB, Bradley JE, Nutman TB. Induction of parasite antigen-specific antibody responses in unsensitized human B cells is dependent on the presence of cytokines after T cell priming. *J Immunol* 1997;159:4793-8.
- 28 Modiano D, Petrarca V, Sirima BS, et al. Different response to *Plasmodium falciparum* malaria in West African sympatric ethnic groups. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:13206-11.
- 29 Dieye A, Diaw ML, Rogier C, Trape J-F, Sarthou J-L. HLA-A, B, C, -DR, -DQ typing in a population group of Sénégal: distribution of HLA antigens and HLA-DRB1*13 and DRB1*11 subtyping by PCR using sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens* 1996;47:194-9.
- 30 Dieye A, Rogier C, Trape J-F, Sarthou J-L, Druilbe P. HLA class I-associated resistance to severe malaria: a parasitological re-assessment. *Parasitol Today* 1997;13:48-9.
- 31 Hill AVS. Genetics of infectious disease resistance. *Curr Opin Gen Devel* 1996;6:348-53.
- 32 Miller LH. Impact of malaria on genetic polymorphism and genetic diseases in Africans and African Americans. *Proc Natl Acad Sci (Wash)* 1993;91:2415-19.
- 33 Riley EM. The role of MHC- and non-MHC-associated genes in determining the human immune response to malaria antigens. *Parasitology* 1996;112:s39-s51.
- 34 Shi YP, Sayed U, Qari SH, et al. Natural immune response to the C-terminal 19-kilodalton domain of *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein-1. *Infect Immun* 1996;64:2716-23.
- 35 Egan AF, Chappel JA, Burghaus PA, et al. Serum epitopes from malaria-exposed people recognize conserved epitopes formed by the two epidermal growth factor motifs of MSP1₁₉, the carboxy-terminal fragment of the major merozoite surface protein of *Plasmodium falciparum*. *Infect Immun* 1995;63:456-66.
- 36 Egan AF, Morris J, Barnish G, et al. Clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria is associated with serum antibodies to three 19-kDa terminal fragment of the merozoite surface antigen, PfMSP-1. *J Infect Dis* 1996;173:765-9.
- 37 Riley EM, Morris-Jones S, Blackman MJ, Greenwood BM, Holder AA. A longitudinal study of naturally acquired cellular and humoral immune responses to a merozoite surface protein (MSP1) of *Plasmodium falciparum* in an area of seasonal malaria transmission. *Parasite Immunol* 1993;15:513-24.
- 38 Eighazali G, Esposito F, Troye-Blomberg M. Comparison of the number of IL-4 and IFN- γ secreting cells in response to the malaria vaccine candidate antigen Pf155. RESA in two groups of naturally primed individuals living in a malaria endemic area of Burkina Faso. *Scand J Immunol* 1995;42:39-45.
- 39 Mercereau-Pujalon O, Fandeur T, Guillozet M, Bonnefoy S. Parasite features impeding malaria immunity: antigenic diversity, antigenic variation and poor immunogenicity. *Res Immunol* 1991;142:690-78.
- 40 O'Neill HC. The lineage relationship of dendritic cells with other hematopoietic cells. *Scand J Immunol* 1994;39:513-16.
- 41 Peters JH, Gieseler R, Thiele B, Steinbach B. Dendritic cells: from ontogenic orphans to myelomonocytic descendants. *Immunol Today* 1996;17:273-8.
- 42 O'Doherty U, Peng M, Gezelter S, et al. Human blood contains two subsets of dendritic cells, one immunologically mature and the other immature. *Immunology* 1994;82:487-93.
- 43 Beckman EM, Melian A, Behar SM, et al. CD1c restricts responses of malaria-specific T cells. Evidence for antigen presentation by a second member of the human CD1 family. *J Immunol* 1996;157:2795-803.
- 44 Faassen AE, Pierce SK. Cross-linking of cell surface class II molecules stimulates Ig-mediated B cell antigen processing. *J Immunol* 1995;155:1737-45.
- 45 Good MF, Zevering Y. Malaria-specific memory T-cells: putative roles of different types of memory responses in immunity and disease. *Res Immunol* 1994;145:455-46.
- 46 Lanzavecchia A. Antigen uptake and accumulation in antigen specific B cells. *Immunol Rev* 1987;99:39-51.
- 47 Lanzavecchia A. Mechanisms of antigen uptake for presentation. *Curr Opin Immunol* 1996;8:348-54.
- 48 Marland G, Bakker AB, Adema GJ, Figdor CG. Dendritic cells in immune response induction. *Stem Cells* 1996;14:501-7.
- 49 Chowdhury MG, Maeda K-i, Yasumoto Y, et al. Antigen-specific B cells are required for the secondary responses of T cells but not for their priming. *Eur J Immunol* 1996;26:1628-33.
- 50 Constant S, Sant'Angelo D, Pasqualini T, et al. Peptide and protein antigens require distinct antigen-presenting cell subsets for the priming of CD4+ T cells. *J Immunol* 1995;154:4915-23.
- 51 Thomas R, Davies LS, Lipsky PE. Comparative accessory cell function of human peripheral blood dendritic cells and monocytes. *J Immunol* 1993;151:6840-5.
- 52 Lutz MB, Abmann CU, Girolomoni G, Ricciardi-Castagnoli P. Different cytokines regulate antigen uptake and presentation by a precursor dendritic cell line. *Eur J Immunol* 1996;26:586-94.
- 53 Macatonia SE, Hosten NA, Litton M, et al. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *J Immunol* 1994;154:5071-9.
- 54 Roth R, Spiegelberg HL. Activation of cloned human CD4+ Th1 and Th2 cells by blood dendritic cells. *Scand J Immunol* 1996;43:646-51.



Organisation de Coordination
pour la lutte contre les Endémies
en Afrique Centrale

XIV^e Conférence Technique

Yaoundé 20 - 23 avril 1982

Secrétariat Général

B. P. 288 - Yaoundé - République Unie du Cameroun
Tél. 23-22-32

Molez J.-F., Brandicourt O., Peelman P., Duboz P., Moussoki J.,
Camevale P. et Druilhe P.

Immunologie appliquée au paludisme : Dynamique de l'acquisition
de la prémunition antipalustre en zone rurale autour de Brazzaville
et effets de la chloroquinisation.

XIV^eme Conf. Techn. de l'O.C.E.A.C. (20-23 avril 1982),
Yaoundé, Cameroun.

IMMUNOLOGIE APPLIQUEE AU PALUDISME :
DYNAMIQUE DE L'ACQUISITION DE LA PREMUNITION EN ZONE RURALE AUTOUR DE BRAZZAVILLE
ET EFFETS DE LA CHLOROQUINISATION.

par

J. F. MOLEZ*, O. BRANDICOURT*, P. PEELMAN*, P. DUBOZ*,
J. MOUSSOKI*, P. CARNEVALE et P. DRUILHE.

Plusieurs centaines d'analyses en Immuno-Fluorescence Indirecte ont été réalisées et leurs résultats sont actuellement en cours d'intégration aux observations parasitologiques, cliniques et épidémiologiques faites directement en zones impaludées.

Les études immunologiques démontrent bien que dans les régions où la transmission du paludisme est permanente, la Prémunition est établie dès l'âge préscolaire, les écoliers et adolescents sont prémunis. Ce que les indices parasitologiques, les enquêtes paludométriques (indices spléniques) et les observations cliniques (pas d'accès pernicleux) confirment par ailleurs.

Les sérologies en zone rurale, concernent surtout des enfants âgés de 10 mois à 10 ans, ainsi que des adultes. La courbe de l'évolution de titres d'anticorps antipalustres en fonction de l'âge a pu être établie, pour cette zone d'endémie stable.

Une étude particulière visant à préciser la dynamique comparative des AC des enfants soumis ou non à une chimio-prophylaxie a minima a été également réalisée à Kinkala, les résultats sont également en cours d'analyses.

Une série de communications scienti-

* CENTRE ORSTOM DE BRAZZAVILLE, Laboratoire d'Entomologie Médicale et Parasitologie, Département du Paludisme - B.P. 181 BRAZZAVILLE (R.P.C.)

tifiques devraient prochainement rapporter ces informations mais d'ores et déjà nous pouvons faire état de quelques résultats préliminaires obtenus à partir des prélèvements réalisés dans les villages des environs de Kinkala et au service de PMI du Dispensaire de Linzolo.

Ce rapport va donc comporter deux parties distinctes :

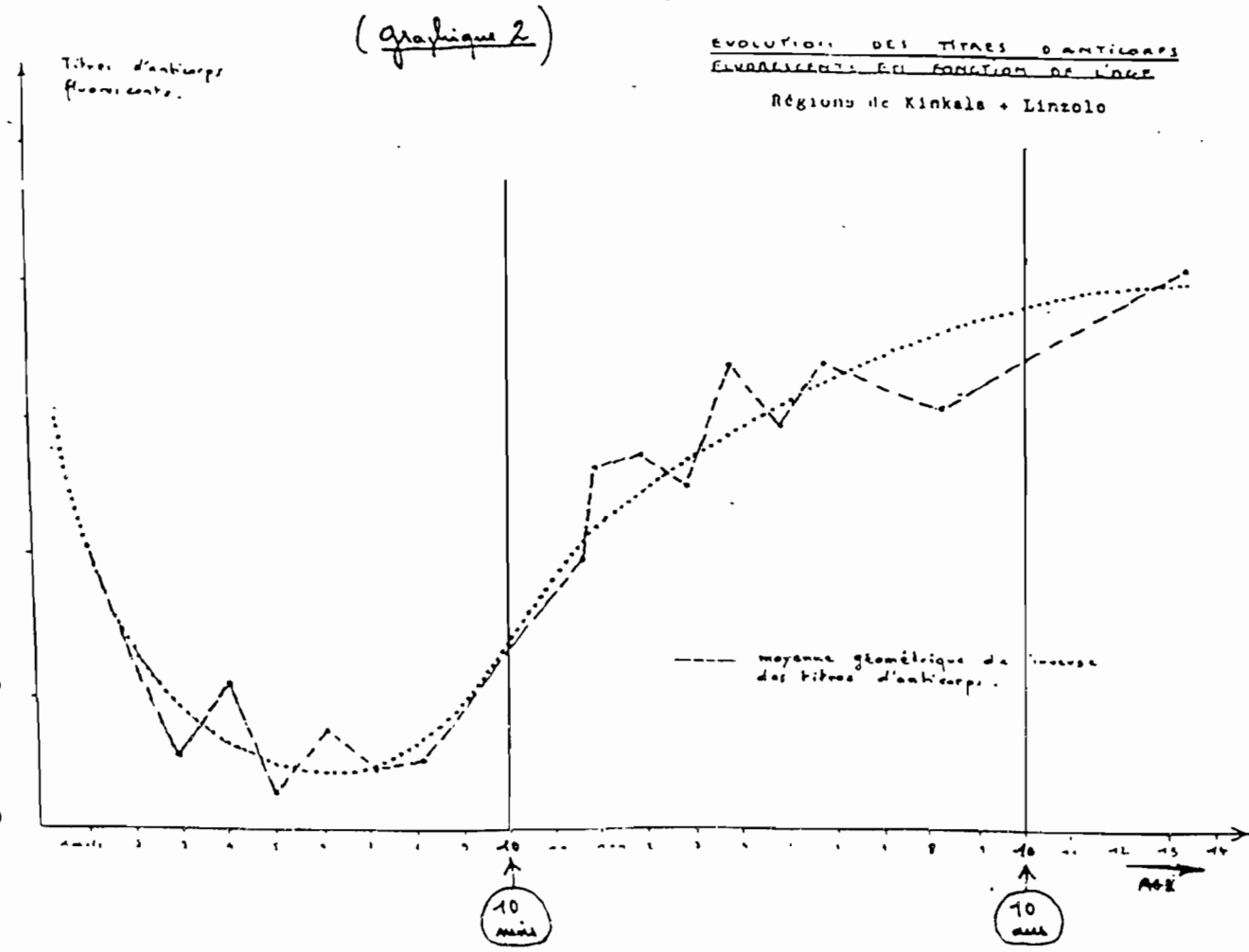
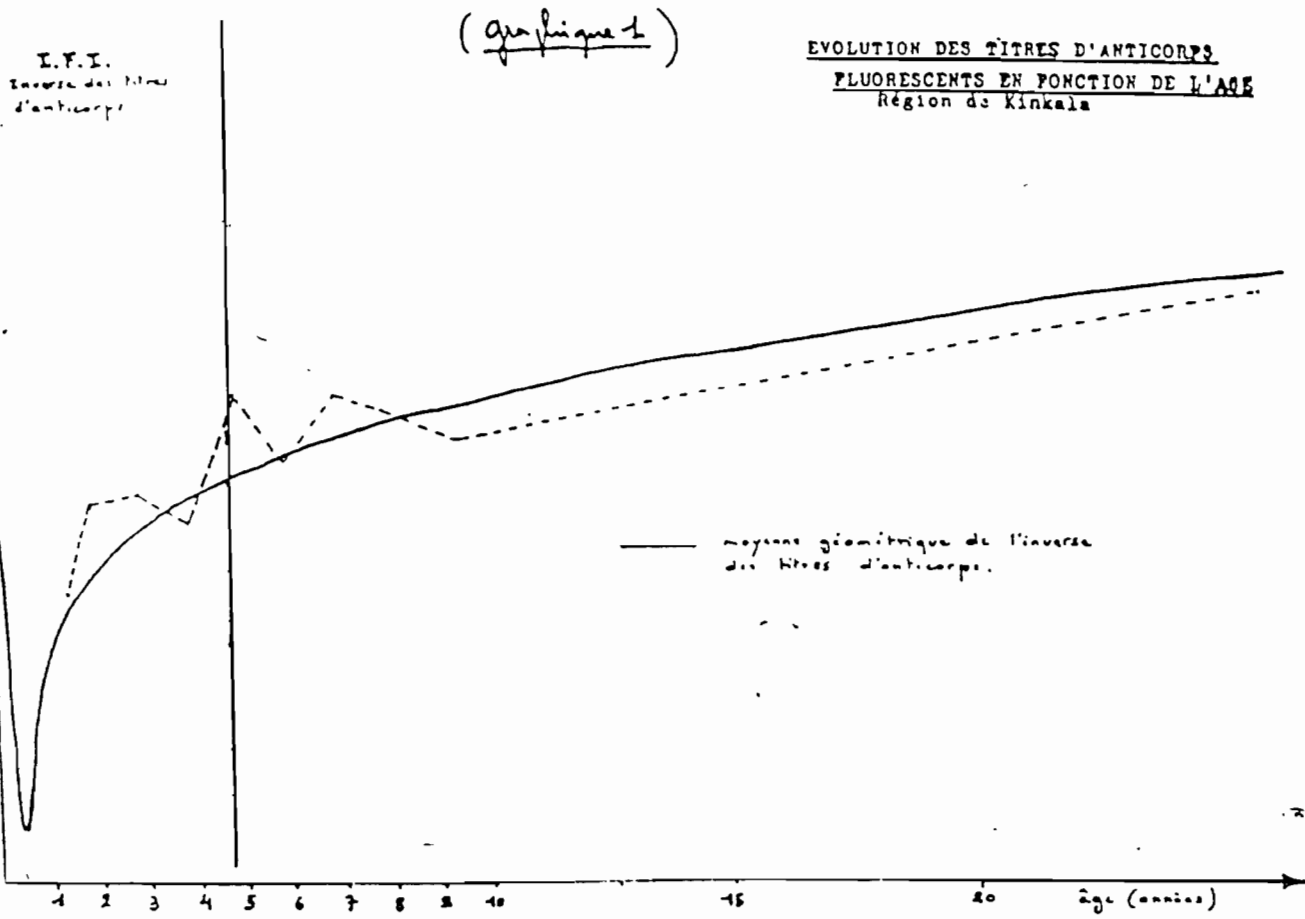
- A)- Evolution des AC fluorescents en zone rurale.
- B)- Influence de la chloroquinisation dans l'acquisition de l'immunité, chez les enfants entre 10 mois et 10 ans.

A)- EVOLUTION DES AC FLUORESCENTS EN ZONE RURALE.

1- Sérologies de la zone rurale de Kinkala :

La courbe de l'évolution des titres d'anticorps antipalustres en fonction de l'évolution de l'âge est extrêmement intéressante (graphique 1) elle montre :

- une chute des AC au cours des premiers 6 mois (élimination des AC materno-transmis)
- une ascension du taux d'AC jusque vers l'âge de 5 ans environ
- une stabilisation à partir de 10-11 ans du taux moyen d'AC à un niveau



très élevé (\neq 5 400) démontrant l'acquisition et le maintien de la prémunition en rapport avec la multiplication des stimulations antigéniques.

2- Sérologies enregistrées au Service de PMI de Linzolo :

Pour une meilleure définition de l'évolution des AC au cours des premiers mois de vie du nourrisson, nous avons accordé une attention particulière aux enfants régulièrement examinés aux consultations de PMI faites à Linzolo.

On constate alors (graphique 2) :

- que dès la naissance le taux d'AC des nouveau-nés est très élevé, les bébés bénéficient donc d'une importante "immunité passive" qui paraît supérieure à celle enregistrée en zone de paludisme instable.

- que ces AC sont pratiquement catabolisés vers le 5ème - 6ème mois et l'enfant est donc dans une phase d'hypogammaglobulinémie aux conséquences cliniques souvent graves.

- que les AC de l'enfant apparaissent et s'accroissent à partir du 7ème mois et la courbe des AC va régulièrement augmenter mais ce n'est que vers l'âge de 2 ans que ce taux atteint celui enregistré à la naissance.

* Les analyses immunologiques confirment bien que l'enfant vivant en zone impaludée et soumis aux nombreuses agressions parasitaires (s'ajoutant aux problèmes des accidents de sevrage...) va avoir une période extrêmement "délicate" entre 6 mois et 2 ans.

Une attention toute particulière devra donc être portée par les agents médicaux et paramédicaux à ces enfants dont les mécanismes immunitaires n'ont pas encore acquis une maturation suffisante pour avoir un important effet "protecteur".

- que cette phase de sensibilité se poursuit jusque vers les 4 - 5 ans (au plan parasitologique on a constaté que l'indice plasmodique des enfants de 2 à 5 ans est doublé par rapport à celui

des nourrissons de moins de 2 ans et vers les 5 ans cet indice plasmodique est stabilisé).

B)- INFLUENCE DE LA CHLOROQUINISATION DANS L'ACQUISITION DE L'IMMUNITÉ CHEZ LES ENFANTS ENTRE 10 MOIS ET 10 ANS.

Dans le cadre d'une étude sur la morbidité et la mortalité liées au paludisme, des consultations hebdomadaires ont été instaurées durant toute l'année 1981 dans Kinkala et sa région et dans certains villages. Nous avons introduit un système de prévention de la mortalité palustre par chimiothérapie systématique des cas fébriles ou chimioprophylaxie des groupes cibles à partir du Programme OMS en cours.

(Depuis 1977, l'OMS mène une action médicale générale dans la zone "Pilote" de Kinkala avec, notamment, une distribution, à titre préventif, de la chloroquine aux enfants d'âge préscolaire et scolaire).

Chimioprophylaxie : Chloroquinisation "a minima", une fois par semaine un comprimé de Nivaquine^(R) chez les enfants jusqu'à 6 ans.

Chimiothérapie : Traitement des cas fébriles par la chloroquine, à la dose de 10 mg/kg/j de Nivaquine^(R) pendant cinq jours.

Différentes zones ont été "établies" selon la présence, permanente ou temporaire, ou l'absence (officielle) de chloroquine, et nous avons une répartition des villages en quatre groupes (*) :

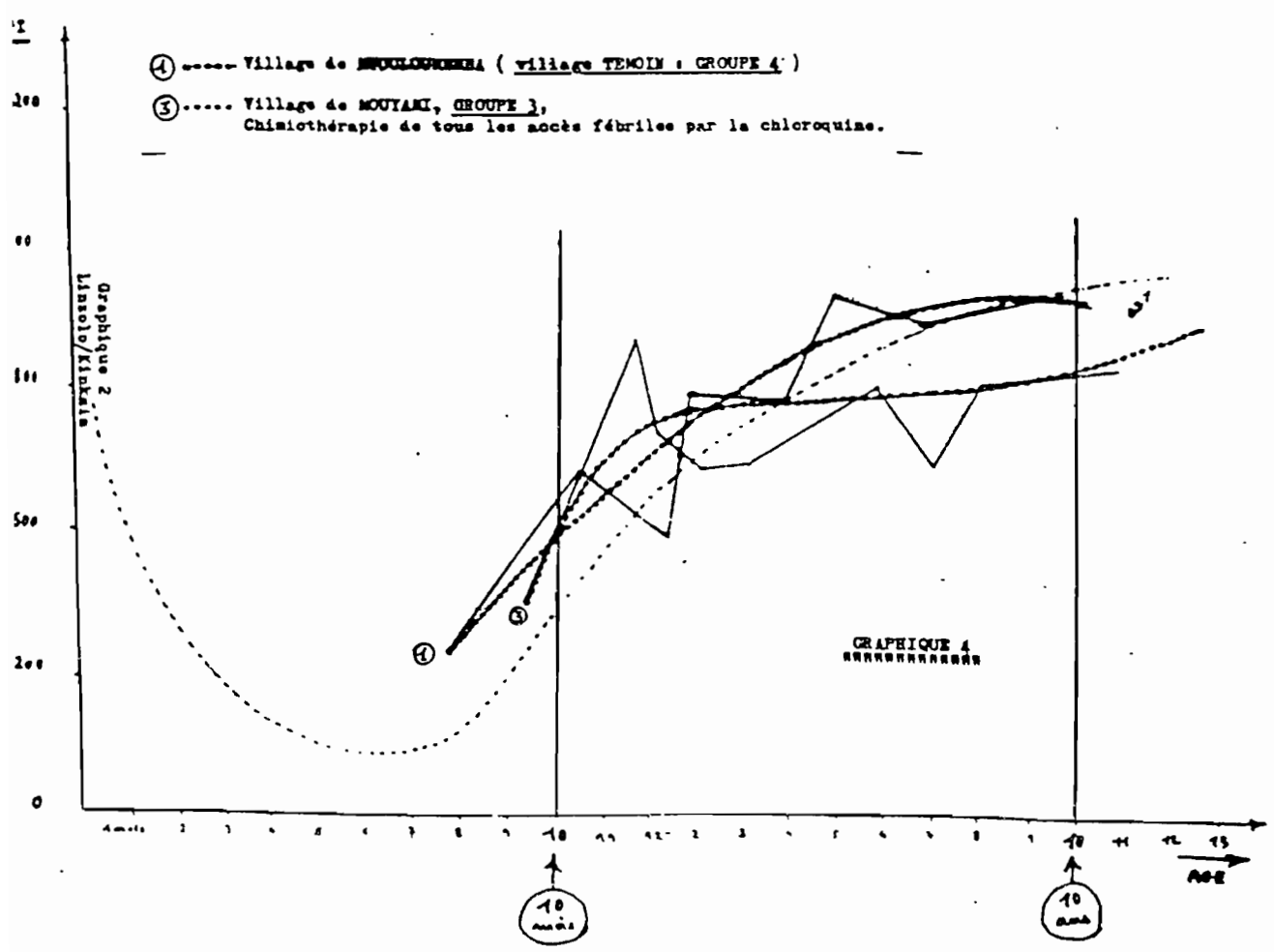
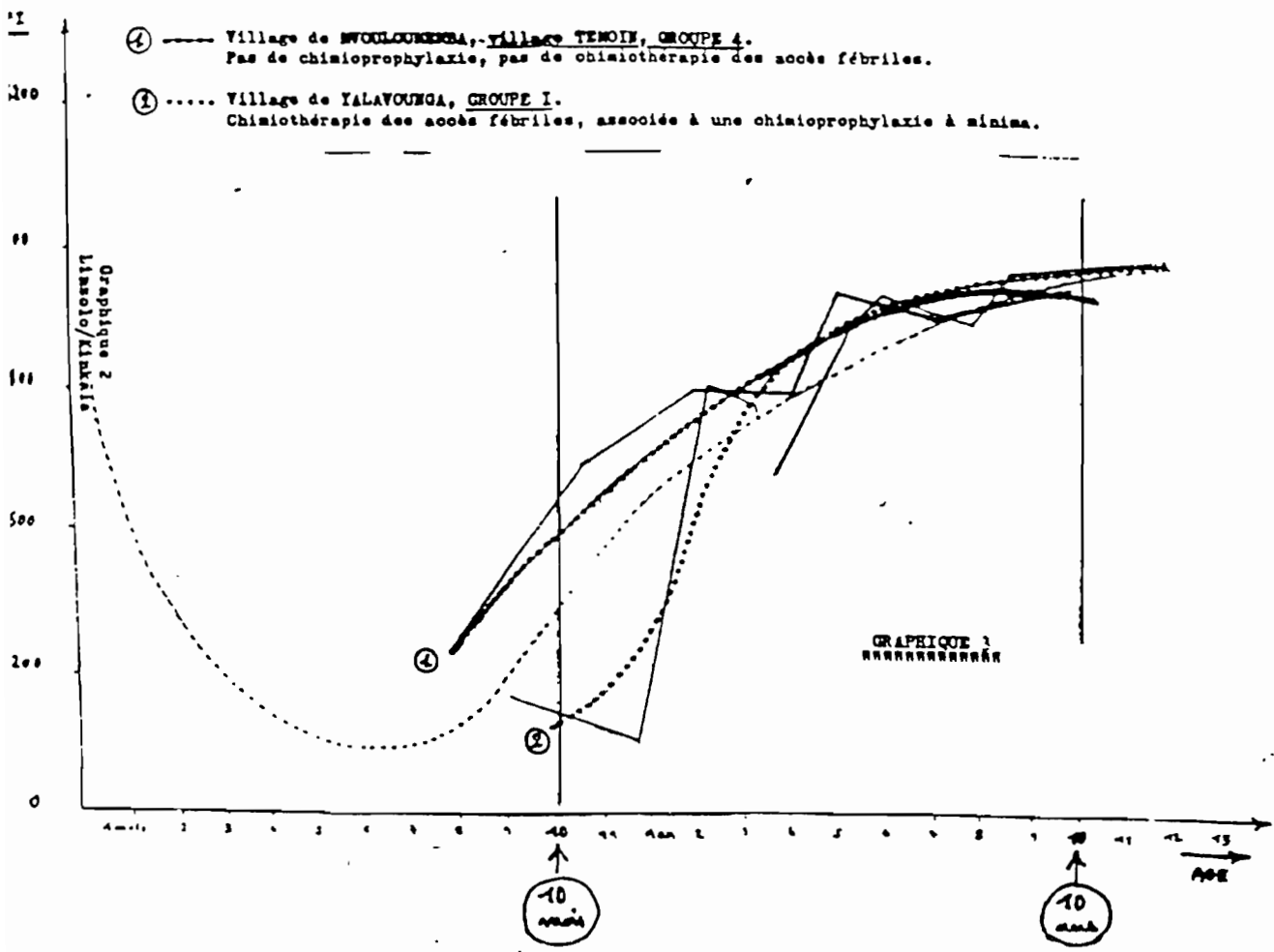
-Groupe 1 : Chimiothérapie et chimioprophylaxie associées ;

-Groupe 2 : chimioprophylaxie seule ;

-Groupe 3 : chimiothérapie seule ;

-Groupe 4 : pas d'action de chloroquinisation.

(*) "Paludisme et démographie : l'enquête de Kinkala". DUBOZ (P.), MOLEZ (J.F.), MOUSSOKI (J.), PEELMAN (P.) - Rapport ORSTOM - EMP/PALU, BRAZZAVILLE, Déc. 1981.



La comparaison des profils d'anticorps chez les enfants vivants dans les différentes catégories de villages choisis dans cette zone rurale de Kinkala va nous permettre de déterminer quelle est la méthode la moins immunodépressive pour l'enfant dans l'acquisition de la prémunition antipalustre.

Pour l'établissement de ce rapport préliminaire, nous avons pu exploiter un certain nombre de sérologies palustres (IFI) d'enfants entre 0 et 14 ans, dans quatre villages (voir carte) appartenant à 3 groupes :

Villages	Chimio- prophy- laxie	Chimio- thérapie	Groupes
YALA- VOUNGA	Oui	Oui	1
MOUYALI	Non	Oui	3
WANDA- MANTSIEDI	Non	Oui	3
MVOULOU- MAMBA	Non	Non	4

(R)
-Si la distribution de Nivaquine est régulière (OMS) au chef lieu de district (Kinkala) elle est beaucoup plus erratique dans les villages difficiles d'accès. Pour réaliser une chimio-prophylaxie effective et a minima nous avons utilisé le Service d'Agents de "Soins de Santé Primaires" (SSP), à YALAVOUNGA par exemple.

-A MOUYAMI, et à WANDA-MANTSIEDI, la présence d'une infirmerie avec un responsable permet aux villageois d'avoir régulièrement accès à la chloroquine et un traitement curatif est donc systématiquement instauré à chaque cas fébrile.

-Les villages du groupe 4, comme celui de MVOULOU-MAMBA, est un "village témoin", les accès palustre, et autres maladies, des personnes se présentant aux consultations bimensuelles sont traitées mais ces villages ne disposent

d'aucune infrastructure "médicale" permanente.

Dans les quatre villages, nous avons pu établir des courbes montrant différentes dynamiques dans l'acquisition de l'immunité antipalustre. L'ascension des anticorps s'effectuant entre 6 mois et 14 ans, nous nous sommes particulièrement intéressé à la dynamique immunitaire chez l'enfant entre les âges de 10 mois et 10 ans.

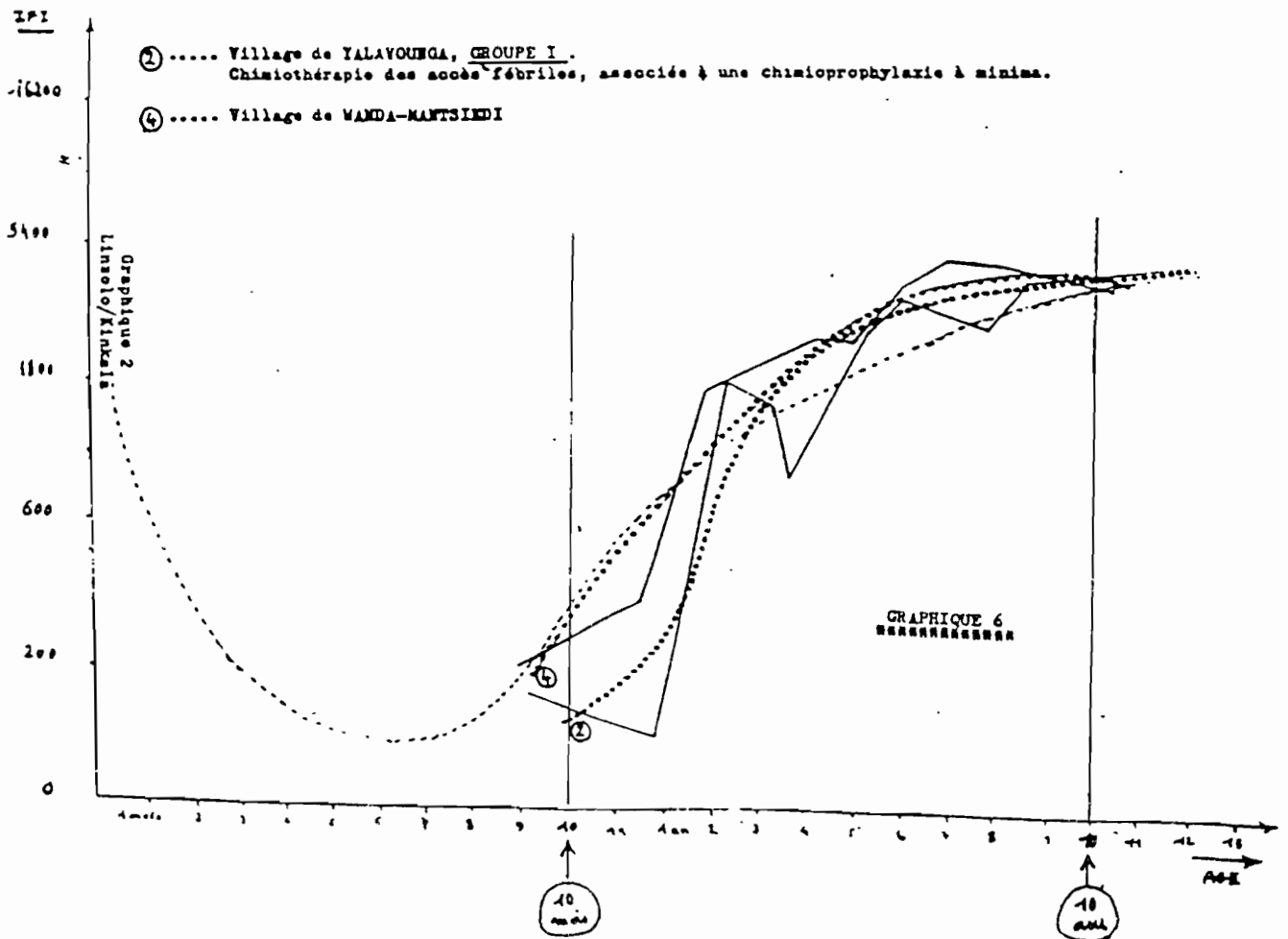
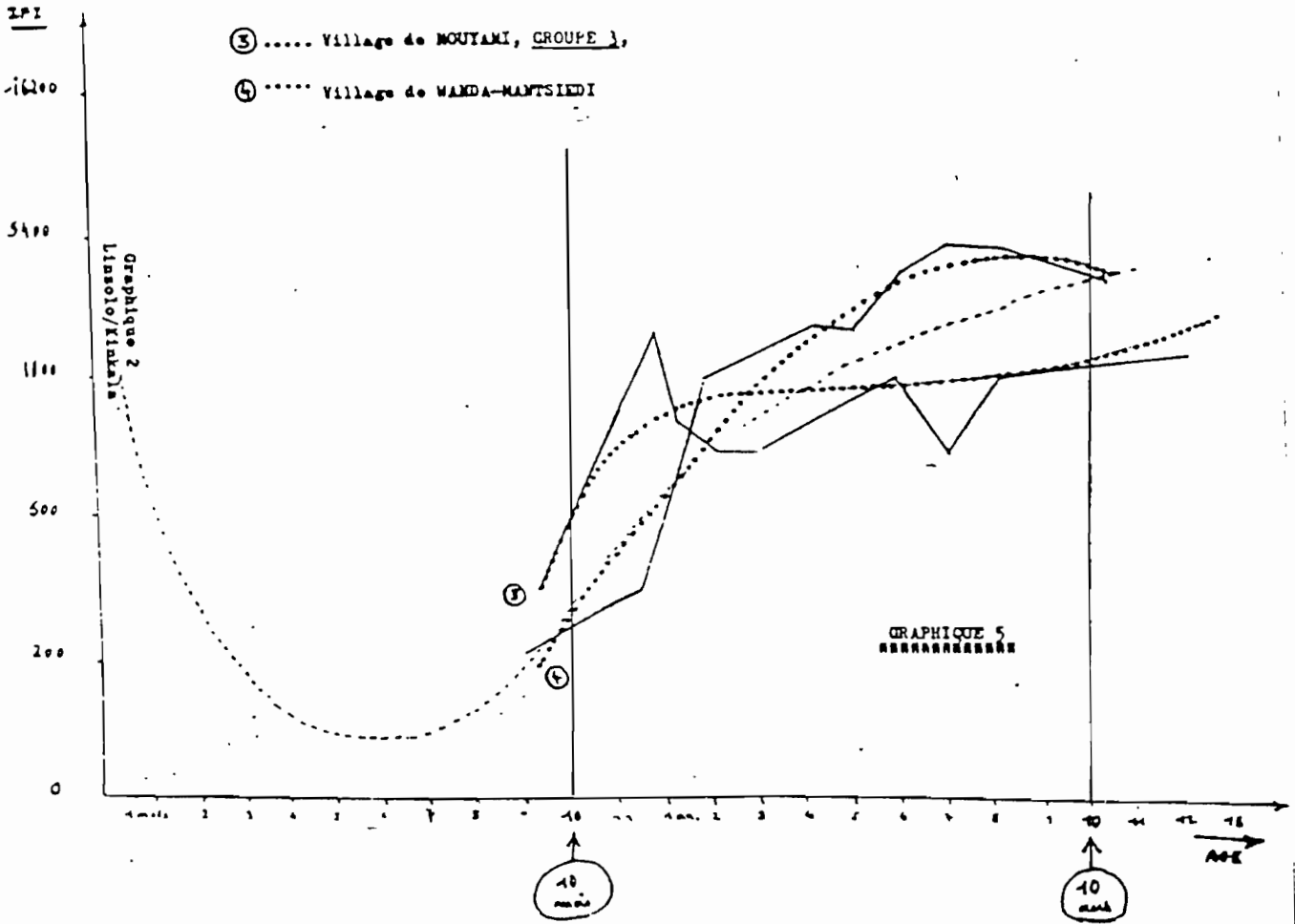
1)- Une chimiothérapie des cas fébriles associée à une chimio-prophylaxie a minima, par rapport aux enfants sans thérapeutique (graphique 3) montre un même maxima à 5.400 des anticorps en IFI vers 7 - 8 ans, mais la pente ascendante est ici très différente. Alors qu'elle est très progressive à partir du 6ème mois chez les sujets sans chloroquine (village de MVOULOU-MAMBA), avec l'association chimiothérapie et chimio-prophylaxie a minima (village de YALA-VOUNGA), la pente débute plus tardivement vers le 11ème mois, pour atteindre rapidement les taux d'AC de la courbe précédente vers l'âge de 4 - 5 ans.

2)- Avec chimiothérapie des cas fébriles (village de MOUYAMI), on observe jusqu'à l'âge d'un an une ascension des anticorps en IFI peu différente de celle des enfants sans thérapeutique du village témoin (graphique 4); taux 600ème à 10 mois.

- Cependant, avec une chimiothérapie seule des cas fébriles, on va obtenir un plateau à 1800 (inverse des titres IFI) dans la dynamique de l'immunité. Cet arrêt dans la progression des anticorps débute vers l'âge de 2 ans, et persiste plusieurs années.

Le taux des AC en IFI va reprendre son ascension vers 8 - 9 ans, pour tendre vers 5 400, maxima qui est atteinte vers 14 ans, alors que ce taux est obtenu dès 7 - 8 ans chez les enfants sans thérapeutique.

3)- Un deuxième village : WANDA-MANTSIEDI a été soumis également à une chimiothérapie des cas fébriles sans chimio-prophylaxie a minima associée, mais la dynamique de l'évolution des AC



chez les préscolaires est très différente dans ces deux villages (graphique 5).

Cependant s'il y a bien dans ces deux zones un infirmier chargé de traiter les accès fébriles, après enquête par un démographe(*) au niveau des populations, on remarque qu'il existe une chloroquinisation à minima qui n'est pas du tout la même.

A MOUYAMI, 91 % des parents déclarent bien ne pas donner de Nivaquine^(R) en chimioprophylaxie à leurs enfants, alors que 1,5 % des parents le font.

A WANDA-MANTSIEDI, 35,9 % des parents déclarent de pas donner de Nivaquine^(R) en chimioprophylaxie à leurs enfants, par contre 38,6 % des parents donnent plus ou moins régulièrement de la chloroquine à leurs enfants.

- Donc si l'on peut admettre le village de MOUYAMI dans le groupe 3, l'attitude dans le second village est intermédiaire avec le groupe 1.

- En effet la dynamique des AC à WANDA-MANTSIEDI se rapproche (graphique 6) de la courbe observée dans le village de YALAVOUNGA (groupe 1 : chimioprophylaxie à minima associée avec une chimiothérapie des cas fébriles). On observe la même ascension des anticorps jusque 5 400, mais le retard dans la dynamique immunitaire est moins important, peut-être à cause de la population mixte (enfants du groupe 3 et du groupe 1) dans le village de WANDA-MANTSIEDI.

4)- Dans les deux villages de YALAVOUNGA et MVOULOUAMBA, l'enquête du démographe n'a pas révélé de comportement très différent du schéma théorique.

A YALAVOUNGA (groupe 1), 86,6 % des parents déclarent assurer une chimioprophylaxie hebdomadaire à minima chez leurs enfants, contre 8,9 % qui ne

le font pas.

A MVOULOUAMBA (groupe 4), 91,3 % des parents déclarent ne pas donner de chimioprophylaxie à leurs enfants, contre 3,7 % qui donnent plus ou moins régulièrement de la chloroquine en prophylaxie.

5)- Nous n'avons pas encore dépouillé les sérologies correspondant au groupe 2 : village avec chimioprophylaxie hebdomadaire à minima chez les enfants, sans chimiothérapie des accès fébriles.

REMARQUES ET CONCLUSIONS.

Au sujet des résultats préliminaires concernant quatre villages appartenant à trois types d'action différents (groupe 1, 3 et 4), d'après le graphique 7, nous pouvons dire que :

- l'ascension des anticorps antipalustre en IFI est en retard de 4 mois environ dans le cas des enfants soumis à une chimioprophylaxie à minima associée à une chimiothérapie des cas fébriles, par rapport aux enfants sans chloroquinisation (taux encore au 200^{ème} au 11^{ème} mois dans le premier cas; ce taux est retrouvé chez les enfants du 7^{ème} mois dans l'autre cas).

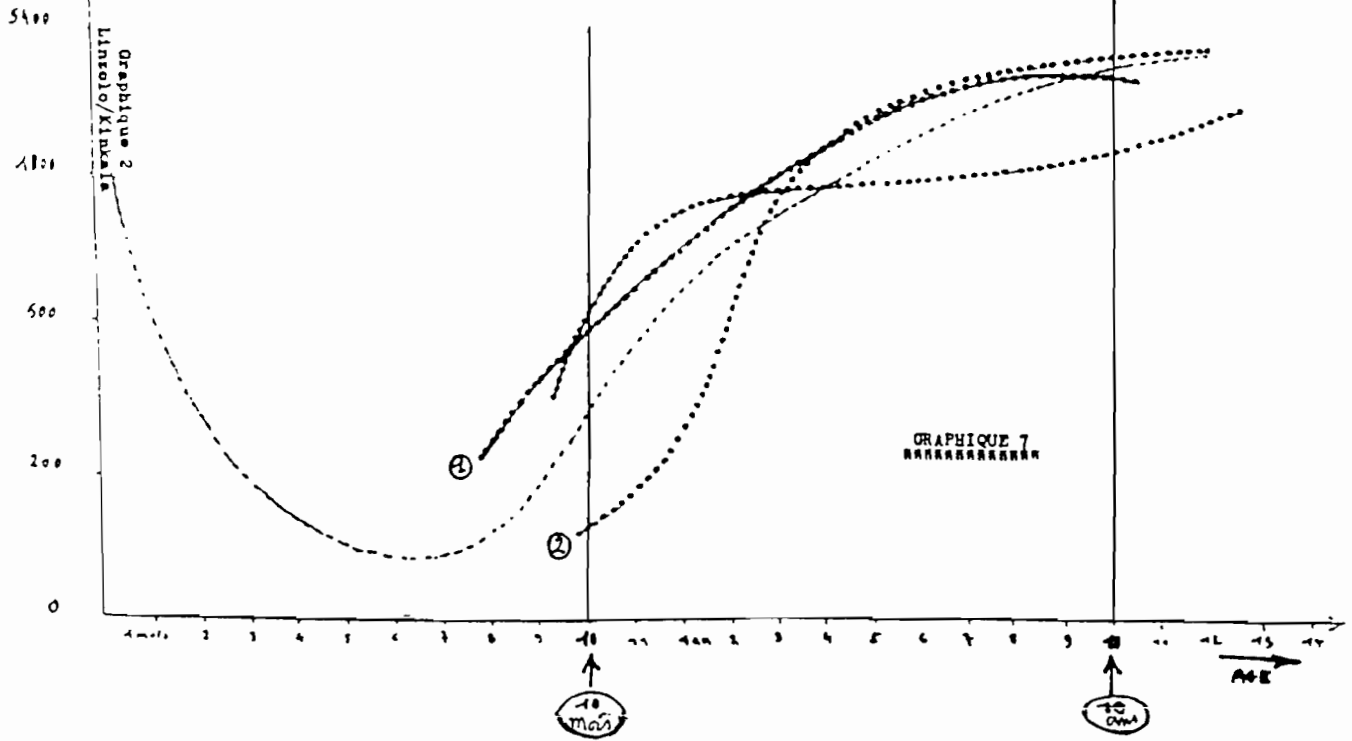
- à partir de l'âge de 3 ans, le taux des AC est au 1800^{ème}, il atteint un maxima au 5400^{ème} vers l'âge de 8 ans par ensuite se stabiliser en plateau dès l'âge de 14 ans : l'état de "prémuniton antipalustre" est acquis.

- avec une chimiothérapie des cas fébriles hebdomadaires et sans chimioprophylaxie à minima, la montée des AC est similaire à celle observée chez les enfants sans chloroquinisation : ascension des anticorps dès l'âge de 6 mois, taux au 600^{ème} vers 10 mois et au 1800^{ème} vers 2 ans. Cependant chez ces enfants qui reçoivent une dose de chloroquine (10 mg/kg/j pendant 5 jours), lors de chaque accès fébrile, les AC antipalustres vont rester en plateau au 1800^{ème} entre 2 ans et 8 ans.

*) DUBOZ (P.) : Rapport ORSTOM EMP/PALU, sous presse.

IFI

- ④ - - - - Village ~~XXXXXX~~ : village TEMOIN, pas de protocole de chloroquinisation.
- ① - - - - Village GROUPE I : chimiothérapie de tous les accès fébriles, associée à une chimioprophylaxie à minima.
- ③ - - - - Village GROUPE 3 : chimiothérapie de tous les accès fébriles, pas de chimioprophylaxie hebdomadaire.



Ce phénomène peut s'expliquer par un abus de thérapeutique antipalustre, du fait que chaque accès fébrile est chloroquinisé par l'infirmier responsable de cette zone. Le diagnostic de "paludisme" est toujours porté à l'excès en zone rurale par les agents sanitaires qui ne font pas de frottis ni de goutte épaisse chez les enfants hyperthermiques(*).

- Chez les enfants soumis à une association chloroquinisation a minima et chimioprophylaxie des cas fébriles, bien que l'on observe un retard de 4 mois environ dans l'ascension des AC, la progression des taux avec l'âge est constante dès le 11ème mois et va se superposer vers l'âge de 4 ans avec les taux en IFI observés chez les enfants non chloroquinisés du village témoin. Il y a dans ce cas une chloroquinisation très régulière, a minima, augmentant peut-être dangereusement la

phase d'hypogammaglobulinémie, mais permettant une ascension régulière des anticorps. Chez ces enfants du village de YALAVOUNGA, soumis au protocole d'association prophylaxie + thérapie du groupe 1, les cas fébriles sont vus et traités "à bon escient" par un médecin du programme paludisme de l'ORSTOM. Il y a certainement une chloroquinisation totale qui est inférieure à celle des enfants non soumis à une chimioprophylaxie a minima, mais dont chaque accès hyperthermique est traité par la chloroquine par l'infirmier.

Pour avoir une meilleure idée de ce travail de chloroquinisation chez les enfants de 0 à 14 ans en zone rurale, il nous faut attendre la fin de toutes les analyses sérologiques dans tous les villages soumis aux autres protocoles différents.

En particulier, il nous manque encore des informations sur la dynamique des AC chez les enfants des villages du groupe 2 (chimioprophylaxie a minima seule, sans chimiothérapie) pour apprécier les effets de chloroquinisation en zone d'endémie palustre stable.-

(*) "Mortalité et morbidité liées au paludisme dans la région de Kinkala", PEELMAN (P.), MORAULT-PEELMAN (B.) et Equipe Palu-Brazza, Rapport ORSTOM-EMP/Palu, Janvier 1982

INFLUENCE DE LA CHIMIOPROPHYLAXIE OU DE LA CHIMIO- THERAPIE PAR LA CHLOROQUINE SUR L'ACQUISITION DES ANTICORPS FLUORESCENTS ANTIPALUSTRES EN ZONE DE SAVANE

par

O. BRANDICOURT¹, P. CARNEVALE¹, D. BAUDON², J.F. MOLEZ², P. GAZIN², M. DANIS¹,
B. DUFLO¹ & M. GENTILINI¹

¹Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Département de Médecine Tropicale et Parasitologie/Unité INSERM 313, 47 bd de l'Hôpital, 75013 Paris, France
²O. C. C. G. E. Centre Muraz, BP 153, Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso

Résumé — Une enquête menée en 1982 dans la région de Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso) a tenté d'évaluer le ralentissement de deux modes de chloroquinisation (chimioprophylaxie à 10 mg/kg/semaine ou traitement présomptif des cas fébriles par 10 mg/kg/1 prise) sur les Ac fluorescents antipalustres chez les enfants de 0 à 10 ans. L'immunofluorescence indirecte pratiquée sur 2745 plasmas a permis de mettre en évidence une nette réduction des titres et du nombre de sujets séropositifs dans les villages sous chimioprophylaxie. Ces résultats reposent sur l'influence de la chimioprophylaxie sur l'acquisition de la prémunition et la stratégie de lutte antipaludique à adopter dans le cadre des soins de santé primaire.

KEYWORDS: Malaria; IFA Titers; Chloroquine, Chemoprophylaxis; Chemotherapy; Burkina-Faso

Introduction

L'activation polyclonale des cellules B dans le paludisme est à l'origine d'une élévation considérable des immunoglobulines (9) et les anticorps (Ac) spécifiques n'en constituent qu'une faible fraction (1, 4, 6). Cependant, si les Ac détectés par immunofluorescence indirecte (IFI) ne témoignent pas individuellement du niveau de prémunition (8), ils constituent lors des enquêtes épidémiologiques un bon indicateur de la prémunition globale d'une population si l'on se réfère à la fréquence des accès palustres dans les différentes classes d'âge (5, 12, 13).

Nous rapportons ici les résultats d'une enquête menée en 1982 au Burkina-Faso (région de Bobo-Dioulasso), cherchant à évaluer chez les enfants de 0 à 10 ans, l'influence respective d'une chimioprophylaxie ou d'une chimiothérapie des cas fébriles par la chloroquine sur l'acquisition des Ac fluorescents anti-palustres.

Matériels et méthodes

Lieux d'observation

L'enquête s'est déroulée en zone de savane soudanienne arborée dont le climat est caractérisé par l'existence d'une saison des pluies de mai à octobre et d'une saison sèche de novembre à avril. Sept villages situés dans un ensemble homogène de riziculture irriguée (vallée du Kou) et 5 situés en région de savane arbustive et encadrés par un centre de formation polyva-

lente agricole (coopérative de Matourkou) ont été retenus. Les villages de chacune des deux zones ont été affectés à un protocole thérapeutique (chimioprophylaxie, chimiothérapie des accès fébriles ou témoin) par tirage au sort avec :

- pour la zone rizicole, 3 villages sous chimioprophylaxie (VK1, VK4, VK6), 3 sous chimiothérapie (VK2, VK3, VK5) et 1 village témoin (Bama)
- pour la zone savane, 2 villages sous chimioprophylaxie (Koro et Desso), 2 sous chimiothérapie (Toukoro et Bare) et un village témoin (Soumousso).

Méthodes

La distribution de chloroquine, assurée dès janvier 1981 par les responsables coutumiers ou agricoles, comportait soit une chimioprophylaxie à la dose hebdomadaire de 10 mg/kg, soit un traitement présomptif des accès fébriles à la dose de 10 mg/kg en une prise; les villages témoins ne bénéficiaient en principe d'aucune distribution de chloroquine mais des soins réguliers et les vaccinations étaient données aux enfants. Dans chaque village, et lors des quatre passages (janvier, avril, juillet, et octobre 1982) un échantillon aléatoire au 1/5 des enfants de 0 à 10 ans a fait l'objet d'un prélèvement pour titrage des Ac fluorescents.

IFI: la technique, précédemment décrite (7) utilise des frottis minces effectués à partir du sang de malades parasités par *P. falciparum*. Les plasmas, obtenus après prélèvements au bout du doigt sur capillaires héparinés, ont été envoyés à Paris en conteneurs étanches isothermes. Avec cette méthode, le seuil de spécificité est de 1/200^e et ne sont considérés comme positifs que les plasmas dont le titre est supérieur ou égal à 1/200^e. Les dilutions suivantes sont de raison 3: 1/600, 1/800, 1/5400.

Les moyennes géométriques de l'inverse des titres observés (GMRT) et les taux de prévalence des séropositivités ont été comparés statistiquement (test ϵ ou χ) entre les différents protocoles thérapeutiques. L'âge qui constitue un facteur de confusion, a été neutralisé par standardisation directe (en équilibrant les effectifs des différentes classes d'âge (0-2, 3-5, 6-10 ans); de même les fluctuations d'effectifs lors des différents passages ont été neutralisés par standardisation directe en utilisant comme effectif de référence l'effectif moyen des quatre passages.

Résultats

2745 plasmas ont été titrés.

1. En zone rizicole :

a) GMRT (tableau 1)

La moyenne géométrique des GMRT des quatre passages est plus élevée dans les villages sous chimiothérapie (GMRT = 564; intervalle de confiance: 472-672) et dans le village témoin (GMRT = 404; 311-523) que dans les villages sous chimioprophylaxie (GMRT = 197; 162-240) et ces différences sont significatives ($\epsilon = 7,81$; $p < 10^{-6}$ et $\epsilon = 4,31$; $p < 10^{-14}$). Les moyennes diffèrent surtout durant la saison sèche (janvier et avril). La moyenne géométrique des GMRT dans le village témoin est significativement inférieure à celle du village sous chimiothérapie ($t = 2,09$; $p < 0,05$) ce qui met en doute le rôle de témoin attribué à ce village.

TABEAU 1
Moyenne géométrique de l'inverse des titres (GRMT) en fonction des saisons et de l'administration de chloroquine en zone rizicole

Traitement	Effectif moyen par passage	Janvier	Avril	Juillet	Octobre	Moyenne annuelle
Chimioprophylaxie	178	174	40	259	824	197
Chimiothérapie	149	454	283	520	1095	564
Aucun	84	294	211	194	2219	404

b) Taux de prévalence (tableau 2):

Les taux moyens de prévalence des séropositifs sont de 75,9% \pm 3,1 dans les villages sous chimioprophylaxie, 91,2% \pm 2,4 dans ceux sous chimiothérapie et de 83,6% \pm 3,9 dans le village témoin. Comme précédemment les différences entre les trois protocoles sont significatives ($p < 0,001$) et les taux diffèrent surtout lors des deux passages de saison sèche.

TABEAU 2
Prévalence de séropositifs en fonction des saisons et de l'administration de chloroquine en zone rizicole

Traitement	Effectif moyen par passage	Janvier	Avril	Juillet	Octobre	Prévalence moyenne
Chimioprophylaxie	178	76,4%	51,1%	79,7%	96,6%	75,9%
Chimiothérapie	149	87,9%	85,9%	91,9%	96,6%	91,2%
Aucun	84	83,3%	72,6%	78,5%	100%	83,6%

2. En zone de savane:

a) GMRT (tableau 3):

Les moyennes géométriques sont globalement plus élevées qu'en zone rizicole. Les différences entre villages sous chimioprophylaxie (GRMT = 450; 364-557) et villages sous chimiothérapie (GRMT = 830; 717-961) et témoin (GRMT = 932; 724-1199) sont là aussi significatives ($\epsilon = 4,65$ et $4,32$; $p < 10^{-4}$) mais celle entre le groupe sous chimiothérapie et le village témoin ne l'est pas ($\epsilon = 0,77$).

TABEAU 3
Moyenne géométrique de l'inverse des titres (GRMT) en fonction des saisons et de l'administration de chloroquine en zone de savane

Traitement	Effectif moyen par passage	Janvier	Avril	Juillet	Octobre	Moyenne annuelle
Chimioprophylaxie	110	1454	188	129	1164	450
Chimiothérapie	136	1790	473	291	1935	830
Aucun	47	1685	883	506	1003	932

b) Taux de prévalence (tableau 4):

Le taux moyen de prévalence des séropositifs est significativement plus élevé dans le groupe sous chimiothérapie (92,4% \pm 2,2) et le village témoin (95,7% \pm 2,9) que dans le groupe sous chimioprophylaxie (83,1% \pm 3,5) ($\chi^2 = 4,79$ et $4,81$; $p < 0,05$). La différence entre chimiothérapie et témoin n'est pas significative ($\chi^2 = 0,77$). En zone de savane les différences sont plus nettes en avril et en juillet.

TABLEAU 4
Prévalence de seropositifs en fonction des saisons et de l'administration de chloroquine en zone de savane

Traitement	Effectif moyen par passage	Janvier	Avril	Juillet	Octobre	Prévalence moyenne
Chimioprophylaxie	110	96,3 %	73,6 %	63,6 %	99,1 %	83,1 %
Chimiothérapie	136	99,2 %	86,0 %	84,5 %	100 %	92,4 %
Aucun	47	97,8 %	93,6 %	92,4 %	100 %	95,7 %

Comme les GRMT, les taux de prévalence sont plus élevés en zone de savane qu'en zone rizicole.

Discussion

Au terme de cette étude, il apparaît que la chimioprophylaxie diminue de façon sensible les titres d'Ac et le nombre de sujets positifs contrairement à la chimiothérapie qui autorise des titres très proches de ceux observés dans les villages témoins. La chloroquine utilisée en chimioprophylaxie est à l'origine d'une diminution de une à deux dilutions en moyenne des titres d'Ac et d'une baisse de 15 à 30 % du nombre de sujets positifs.

Les différences sérologiques entre les deux zones géographiques peuvent s'expliquer par les modalités de transmission du paludisme : en effet, les enquêtes entomologiques montrent que, si la densité anophélienne est deux fois plus élevée en zone rizicole (3, 10, 11, 14), la transmission est 2,7 fois plus élevée en zone de savane (situation qui semble résulter d'une réduction de l'anthropophilie et de la longévité d'*Anopheles gambiae* en zone rizicole et du rôle vecteur assuré par *A. funestus* en zone de savane); ceci est confirmé par les analyses parasitologiques avant chloroquinisation qui notent des indices plasmodiques chez les enfants de 0 à 10 ans de 43,8 % en rizière et de 62,3 % en savane. Ces données expliquent donc les valeurs toujours plus élevées de la zone savane.

De même, les variations saisonnières des taux quotidiens d'inoculation (10, 11) expliquent celles de la sérologie : pour la zone rizicole, la transmission nulle en mars/avril reprend en mai/juin pour être maximale en octobre tandis que pour la zone de savane le niveau de transmission reste très faible entre mars et juin ce qui explique la diminution des GRMT et des taux de prévalence en avril et juillet; en effet, en tenant compte du délai nécessaire à l'apparition des Ac, la reprise de transmission au cours du mois de juin peut ne pas avoir de traduction sérologique début juillet. Dans les deux zones, les variations saisonnières sont plus nettes dans le groupe sous chimioprophylaxie qui négative en période de faible transmission, les titres faibles acquis en période de transmission maximale.

Les enquêtes entomologiques notent d'importantes variations des niveaux de transmission d'un village à l'autre à l'intérieur d'une même zone (10, 11), notamment dans la vallée du Kou : dans le village témoin de la zone rizicole où le niveau de transmission est élevé, on peut se demander si les faibles GRMT ne résultent pas d'une consommation « sauvage » de chloroquine. Il est clair que tous ces éléments risquent d'avoir introduit un biais dans notre étude. Il aurait été beaucoup plus satisfaisant d'affecter aux différents

protocoles non pas des villages entiers mais des individus tirés au sort : ceci n'a pas été possible car il aurait fallu surveiller en permanence, sur place, le respect des protocoles par les villageois qui auraient mal compris ces différences de traitement.

La comparaison de nos résultats à ceux obtenus lors d'une enquête analogue menée en zone d'holoendémie stable au Congo (12) n'est pas sans intérêt : en zone holoendémique, la chimioprophylaxie ne diffère que de quelques mois l'apparition des Ac et dès l'âge de 11 mois les GRMT sont identiques chez les chimioprophylactisés et les témoins; la situation est bien différente en zone de paludisme saisonnier puisque dans les villages sous chimioprophylaxie de la vallée du Kou, le GRMT des enfants de 0-10 ans est inférieur à celui des enfants congolais de 6-12 mois chez lesquels la mortalité palustre est la plus importante (5). Il est probable que les taux très faibles des villages sous chimioprophylaxie ne sont pas protecteurs et que la prophylaxie ralentit de façon importante l'acquisition de la prémunition, déjà longue et difficile à obtenir dans ces zones de paludisme à transmission saisonnière. La prophylaxie fait chuter les prévalences plasmodiales de façon importante (pour l'ensemble des deux zones de 51,9% à 26,2% durant la saison des pluies et de 38,4% à 7,7% durant la saison sèche) mais elle ne semble pas réduire significativement la mortalité infanto-juvénile (2).

Compte tenu des difficultés à assurer une prophylaxie régulière (coût, désintérêt croissant de la population), du risque de sélection de souches chloroquinorésistantes et du retard qu'elle entraîne dans l'acquisition de la prémunition, il semble logique de proposer la chimiothérapie des accès fébriles comme stratégie de lutte contre le paludisme dans le cadre des soins de santé primaire.

Remerciements. — Cette étude a bénéficié d'un appui financier du Programme Spécial de Recherche et de Formation concernant les maladies tropicales parrainé conjointement par le P.N.U.D., la Banque Mondiale et l'O.M.S.

Effect of chemoprophylaxis or systematic chemotherapy of febrile patients with chloroquine upon antimalarial fluorescent antibody levels.

Summary. — A survey was carried out in 1982 in the area of Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso) to compare the effect of two malaria control strategies (chemoprophylaxis with a 10mg/kg body weight weekly dose of chloroquine and systematic chemotherapy of febrile attacks with a 10 mg/kg body weight single dose) upon the fluorescent antibody levels in children of 0-10 years. Results show a significant decrease of IFA titers and of the number of seropositive subjects in the villages under chemoprophylaxis. These results again raise the problem of the effect of prophylaxis upon acquired immunity and of the most convenient control strategy to apply on a large scale within the framework of primary health care.

Weerslag van chemoprophylaxis of systematische behandeling van koortsige patiënten met chloroquine op anti-malaria antilichamen in de immunofluorescentie-test.

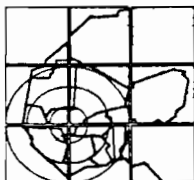
Samenvatting. — Een in 1982 rond Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso) uitgevoerde enquête was erop gericht de weerslag na te gaan van twee toedieningswijzen van chloroquine op de anti-malaria antilichamen in de immunofluorescentie-test bij kinderen tussen 0 en 10 jaar oud: chemoprophylaxis met 10 mg/kg/week en behandeling van koortsige patiënten met 10 mg/kg in één inname. Indirecte immunofluorescentie op 2745 plasma monsters wees op een duidelijke afname van de titers en van het aantal seropositieve personen in dorpen met chemoprophylaxis. Deze resultaten stellen het probleem opnieuw aan de orde van de invloed van chemoprophylaxis op het verwerven van premunition en van de bestrijdingsstrategie van malaria in het kader van de primaire gezondheidszorg.

Reçu pour publication le 20 novembre 1986.

REFERENCES

1. Atkinson JP, Glew RH, Neva FA, Franck MM: Serum complement and immunity in experimental simian malaria. II Preferential activation of early components to inhibit protective immunity. *J. Infect. Dis.*, 1975, **131**: 26-33
2. Baudon D, Roux J, Carnevale P, Rey JL, Meyran MB, Brandicourt O: Systematic chemotherapy of febrile cases: a substitute strategy for malaria control in rural areas of Africa. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1986, **80**: 164.
3. Carnevale P, Hervy JP, Robert V *et al.*: La Transmission du paludisme dans un périmètre rizicole et en zone de savane de Haute Volta. 2ème Conf. Int. Paludisme et Babesiose, Annecy, 19-22 sept. 1983, p 241.
4. Cohen S, McGregor IA, Carrington S: Gammaglobulin and acquired immunity to human malaria. *Nature*, 1961, **192**: 733-737.
5. Collectif d'auteurs: Le paludisme en milieu rural au Congo, *In* «Travaux et documents de géographie tropicale», CNRS Ed., 1983, **48**: 109-121.
6. Curtain CC, Kidson C, Champness DL, Gorman JC: Malaria antibody content of gamma 2-7S globulin in tropical population. *Nature*, 1961, **203**: 1366.
7. Druilhe P, Recherche d'anticorps anti-plasmodiaux par immunofluorescence indirecte. *in* «Journée de Biologie Clinique, Necker, Institut Pasteur», 1981, 11-13.
8. Fribourg-Blanc A, Druilhe P, Brasseur P, Rhodes-Feuillette A, Ballet JJ, Tharavanij S: Immunological elevation of cell-mediated and humoral immunity in Thai patients with cerebral and non cerebral *Plasmodium falciparum* malaria II Evolution of serum levels of immunoglobulins, antimalarial antibodies, complement fractions and alpha interferon. *Southeast Asian J Trop Med Pub. Hith.*, 1985, **16**: 307-313.
9. Greenwood BM, Whittle MC: Immunology of medicine in the tropics, London, Edward Arnold Ed., 1981.
10. Hervy JP, Legros F: Evaluation entomologique de deux thérapeutiques antipaludiques à la chloroquine, prophylaxie chez les enfants de moins de 14 ans, traitement systématique de tous les accès fébriles. Mise en place dans les villages de la région de Bobo-Dioulasso (Haute-Volta). II. Résultats des enquêtes menées en 1980, année de collation des données de référence, avant chloroquinisation. *Doc. Tech. OCCGE*, 1981, n° 7651/81.
11. Hervy JP, Legros F, Hurpin C: Evaluation entomologique de deux thérapeutiques antipaludiques à la chloroquine-prophylaxie chez les enfants de moins de 14 ans, traitement systématique de tous les accès fébriles. Mise en place dans les villages de la région de Bobo-Dioulasso (Haute Volta) III Résultats des enquêtes menées en 1981. *Doc. Tech. OCCGE*, 1981, n° 7849/81.
12. Molez JF, Brandicourt O, Pœelman P, Duboz P, Moussoki J, Carnevale P, Druilhe P: Dynamique de l'acquisition de la prémunition en zone rurale autour de Brazzaville et effets de la chloroquinisation. 14ème Conf. Tech. OCEAC, Yaoundé, 1982, p. 54-63.
13. Molineaux L, Gramiccia G: The Garki project research on the epidemiology and control of malaria in the Sudan Savanna of West-Africa. Geneva, World Health Organization, 1980, 311 pages.
14. Robert V, Gazin P, Boudin C, Molez JF, Ouedraogo V, Carnevale P: La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone rizicole des environs de Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso). *Ann soc. Belge Med. Trop.* 1985, **65**, Suppl. 2, 201-214.

ORGANISATION DE COORDINATION ET DE COOPERATION POUR LA
LUTTE CONTRE LES GRANDES ENDEMIES.



Centre Muraz

O . C . C . G . E .

01 BP 153 Bobo Dioulasso 01
BURKINA FASO

**NECESSITE EN P.M.I. DE "CIBLER"
EN PRIORITE LES JEUNES PRIMIGESTE
OU SECONDE GESTE POUR UN MEILLEUR
CONTROLE DU PALUDISME CHEZ
LA FEMME ENCEINTE**

MOLEZ J.F.¹, ZEI M.P.², CARNEVALE P.¹, TRAORE S.G.²,
BOSSENO M.F.¹, GNIENHOU O.¹, SANOU S.³, AKINOCHO Y.¹

1 - Antenne ORSTOM
auprès du Centre Muraz

2 - Hôpital Sanou Sourou

3 - Maternité Ouattara Guimbi

Communication présentée par le Docteur J. F. MOLEZ, Médecin Parasitologiste ORSTOM,
à la XXVème Conférence Technique de l'O.C.C.G.E. - Bobo Dioulasso - Avril 1985.

L'infection placentaire par *Plasmodium* n'est pas un fait rare en Afrique sud-saharienne, où la transmission du paludisme est toujours intense. En général 10% des femmes parturiantes présentent une parasitémie placentaire au moment de l'accouchement. Cependant si le paludisme congénital est rare, l'infection palustre peut avoir un effet néfaste sur le développement foetal, entraînant une grossesse à risques avec avortement, prématurité ou déficit pondéral. L'objectif de notre travail est de préconiser une stratégie de contrôle du paludisme au niveau des Centres de P.M.I. grâce aux travaux de recherche en parasitologie et immunologie.

Notre étude s'est déroulée sur deux ans 1/2, elle s'est effectuée dans deux maternités de Bobo-Dioulasso : l'Hôpital Sanou Sourou, et la Maternité Ouattara Guimbi, et au total c'est quelques 1389 placentas qui ont été examinés microscopiquement.

Seul *Plasmodium falciparum* a été retrouvé infectant les placentas. Les parasitémies placentaires sont modulées durant l'année en fonction des variations saisonnières de la transmission du paludisme.

Dix pour cent d'infestation en moyenne annuelle, les parasitémies placentaires sont modulées durant l'année en fonction des variations saisonnières de la transmission du paludisme.

Le plus fort pourcentage de placentas parasités est de 24,5%, il se trouve en fin de saison des pluies, tandis que le plus faible pourcentage qui est de 1% se trouve en saison sèche. Toutefois on observe une remontée de ce pourcentage en fin de saison des pluies, les densités les plus faibles se trouvent en saison sèche.

De la même façon on retrouve des variations saisonnières dans les densités d'hématies parasitées. On trouve parfois 70% de parasitémie érythrocytaire en fin de saison des pluies, les densités les plus faibles se trouvent en saison sèche.

En relation avec ces fluctuations, les déficits pondéraux chez le nouveau-né se rencontrent surtout en fin de saison des pluies et en saison sèche (déficit 300 à 500 g. selon le sexe).

On doit souligner le fait que l'infection placentaire provoque soit des avortements en début de grossesse, soit plus tard des prématurés ou soit des petits poids de naissance (moins de 2500 g.).

Ce sont surtout les fortes densités parasitaires qui vont avoir des conséquences sur le déroulement de la grossesse.

Il y a séquestration des hématies parasitées, dans les espaces intervillositaires avec ralentissement parfois très important de la circulation placentaire et hypoxie foetale, qui sera fonction de la parasitémie érythrocytaire.

Ce sont des problèmes d'hémodynamique placentaire qui vont provoquer des gestations raccourcies (prématurité) et des retards de croissance (déficit pondéral), mais il n'y a pas d'atteinte parasitologique du foetus.

L'examen microscopique du placenta est capital, car il révèle que ce sont les plus fortes gestantes (primi où seconde geste) qui présentent les plus fortes densités parasitaires. On trouve chez elles une activité macrophagique très importante dans le placenta, et la qualité de cette réaction histologique semble intimement liée à l'état immunitaire de la gestante. Cette réaction ne présente pas la même intensité chez une primigeste où chez une seconde geste que chez une grande multigeste. Ces dernières n'ont jamais de parasitémies très denses, et la réaction macrophagique est plus tardive et moins violente.

Dans la classe des 1ère geste, on retrouve 32,8 % d'infection placentaire							
"	"	"	2ème gestes	"	13,5 %	"	"
"	"	"	multigestes	"	8,6 %	"	"

Le groupe à risque élevé en Afrique concerne les jeunes primigestes, qui ont en général moins de 18 ans, où même 16 ans, d'autre part ces primigestes sont plus souvent et plus fortement anémiées (à partir du 4ème mois de grossesse) que les autres classes de gestantes (plus de deux gestes).

Ainsi la catégorie de femmes enceintes primi où seconde geste est celle qui présente le plus souvent des prématurés (gestation raccourcie), où des petits poids de naissance (croissance ralentie), et c'est elle également qui va présenter les plus fortes densités parasitaires dans le placenta lorsqu'il y a infection palustre, accentuant encore le déficit pondéral du nouveau-né.

Les premières et secondes gestes sont des femmes "à risque" devant faire l'objet d'une attention particulière en P.M.I. L'infection palustre les concerne particulièrement, la parasitémie placentaire aggravant les facteurs de risque : prématurité, déficit pondéral, anémie. Ainsi il faut préconiser une conduite à tenir vis à vis des ces gestantes pour une meilleure protection contre le paludisme.

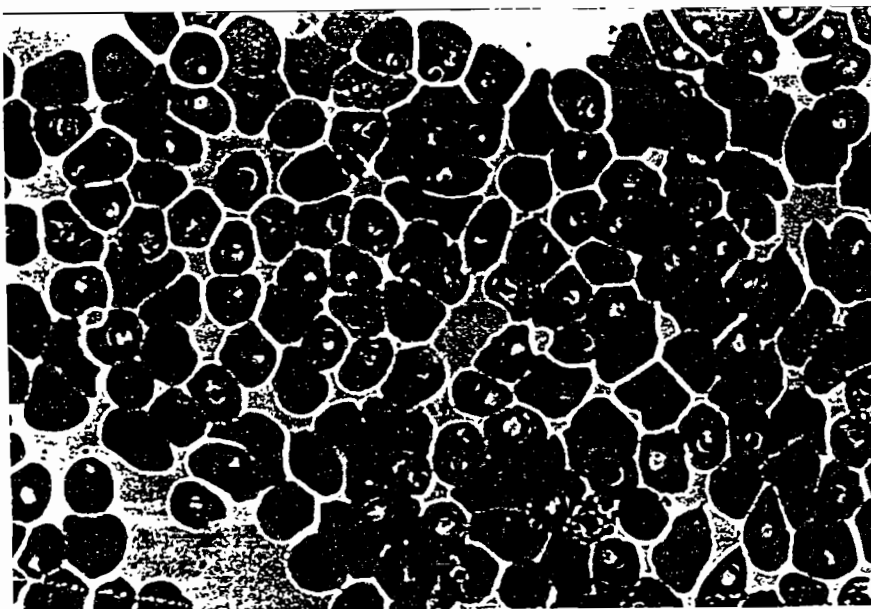
Des épisodes hyperthermiques sont toujours retrouvés à l'interrogatoire chez la femme qui accouche avec un placenta parasité. Très souvent, il y a eu chimiothérapie de l'accès fébrile, qui a fait disparaître les signes cliniques et la parasitémie circulante et peut être les très faibles et débutantes parasitémies placentaires. L'infection placentaire dès qu'elle a un certain seuil de densité, persiste jusqu'à l'accouchement, surtout s'il s'agit d'une primigeste ou d'une seconde geste. Cependant chez certaines multigestes on peut trouver des parasitémies "nettoyées" (placentas avec macrophages chargés en pigment palustre, et pas d'hématozoaires intra-erythrocytaires).

Il faut donc envisager la nécessité d'une chimioprophylaxie adaptée chez la femme enceinte (1 comprimé hebdomadaire à 100 mg de chloroquine). La chimiothérapie de l'accès fébrile est indispensable mais pas suffisante, elle peut être une fausse garantie (disparition des signes cliniques), surtout chez les jeunes gestes (densités placentaires plus fortes).

Donc nécessité de "ciblage" en PMI des premières et secondes gestes, pour une chimioprophylaxie en vue d'un meilleur contrôle du paludisme chez la femme enceinte et un meilleur développement foetal in utero.

<u>Primigeste/Seconde geste</u> <----->	<u>Multi-geste</u> <----->
fort % d'infection placentaire =	faible % d'infection placentaire =
<u>femmes jeunes</u> primiparité densités parasitaires fortes lésions placentaires importantes =	âge moyen plus élevé <u>multipares</u> densités parasitaires modérées lésions placentaires modérées =
<u>déficit pondéral fréquent</u> <u>prématurité</u>	déficit pondéral faible prématurité rare

NÉCESSITÉ EN P.M.I. POUR UN
MEILLEUR CONTROLE DU PALUDISME CHEZ
LA FEMME ENCEINTE (10% D'INFECTION PLACENTAIRE)
D'EFFECTUER UNE CHIMIOPROPHYLAXIE
TOUT AU LONG DE LA GROSSESSE ET DE
"CIBLER" EN PRIORITE LES JEUNES
PRIMIGESTE OU SECONDE GESTE



STRATÉGIES DE CONTRÔLE DES PALUDISMES

D. BAUDON, J. ROUX, P. CARNEVALE,
J. F. MOLEZ, P. GAZIN

La mise au point du D.D.T. en 1946 et les premiers succès encourageants avaient permis d'envisager une lutte efficace dans les pays d'endémie palustre. Lors de la VIII^e Assemblée mondiale de l'O.M.S., en 1955, avait été défini le principe de l'éradication, fondé surtout sur la lutte insecticide par aspersion intradomiciliaire de D.D.T. Les résultats n'ont pas été à la hauteur des espérances. En Afrique de l'Ouest, une étude détaillée de la transmission du paludisme, et de son contrôle éventuel par aspersion intradomiciliaire d'insecticides à effet rémanent, avait été réalisée dans une région de savane arbustive de Haute-Volta (zone pilote de Bobo-Dioulasso) de 1954 à 1958. Les résultats, rapportés par Choumara et coll., ont montré l'impossibilité d'arriver à l'éradication du paludisme par l'emploi du "house-spraying". Lors de la XXII^e Assemblée mondiale, en 1969, la stratégie fut repensée à l'O.M.S. selon le principe de l'adaptabilité de la lutte à des situations particulières. Le « contrôle » du paludisme fut proposé comme une alternative à l'éradication.

HISTORIQUE : PRINCIPE DE CONTRÔLE DES PALUDISMES

• Le comité régional de l'Afrique, réuni à Accra en septembre 1981, a proposé une stratégie régionale de la lutte antipaludique fondée sur quatre approches tactiques :

- traitement précoce à dose unique de chloroquine de tous les cas suspects ou confirmés de paludisme ;
- chimioprophylaxie hebdomadaire par la chloroquine des enfants de 0 à 5 ans et des femmes enceintes à partir du cinquième mois de grossesse ;
- lutte antivectorielle diversifiée en fonction du biotope et du vecteur ;
- surveillance épidémiologique des zones indemnes.

Ces mesures doivent être intégrées dans des systèmes de soins de santé primaire, avec participation active des communautés.

• Quatre variantes tactiques sont actuellement proposées par l'O.M.S. pour le contrôle du paludisme, suivant le développement socio-économique des pays et l'aspect épidémiologique des paludismes :

- lutte contre la mortalité palustre ;
- lutte contre la morbidité palustre ;
- prévention de l'incidence paludéenne ;
- éradication du paludisme.

Ainsi, on note une évolution profonde mettant l'accent sur la lutte personnalisée, adaptée à chaque pays, suivant l'aspect épidémiologique de son ou de ses paludismes, sur l'indispensable participation des populations.

Avant de choisir une stratégie de contrôle des divers paludismes, il faut connaître son efficacité mais aussi sa « faisabilité » réelle sur le terrain. Il faut tenir compte aussi des multiples facteurs connus qui interviennent, parfois naturellement, dans la régression du paludisme.

CHOIX DES STRATÉGIES DE LUTTE

Les facteurs géographiques conditionnent en partie des aspects épidémiologiques différents et peuvent permettre la régression du paludisme (sécheresse par exemple). L'homme peut obtenir une diminution de l'endémie d'une manière directe, grâce aux moyens de lutte spécifique bien connus et efficaces (lutte antivectorielle, lutte antiplasmodiale médicamenteuse, éducation sanitaire). Mais le développement socio-économique participe aussi presque naturellement à la régression du paludisme et, plus ce développement est important, meilleure est la possibilité d'utilisation des moyens spécifiques directs. C'est ce qu'on observe en milieu urbain où la prévalence paludique est toujours plus faible qu'en milieu rural, même s'il n'est pratiqué aucun moyen de lutte antipaludique. Mais c'est surtout en milieu rural que se pose le problème du contrôle du paludisme, puisque 75 à 95 % des populations vivent dans ce contexte, où le développement socio-économique n'est pas encore suffisant et où les moyens spécifiques de lutte sont seuls utilisables pour envisager le contrôle de l'endémie. Des expérimentations réalisées dans des zones bien contrôlées d'Afrique intertropicale ont montré l'efficacité de la lutte antivectorielle et antiplasmodiale. Or, le paludisme représente toujours un problème de santé publique en milieu rural ; ceci est dû essentiellement à la non - « faisabilité » de certaines des stratégies de lutte utilisées.

Régression du paludisme

Pour qu'une stratégie de lutte soit réellement efficace, il faut qu'elle soit réalisable sur le terrain, à l'échelle du pays. Il est donc nécessaire d'envisager sa « faisabilité », fonction des moyens logistiques et techniques dont on dispose, et de son acceptabilité par les populations concernées.

Faisabilité des stratégies

L'objectif principal sur lequel l'accord est unanime est de lutter contre la mortalité liée au paludisme. Il peut être atteint par la stratégie de **chimiothérapie systématique de tous les accès fébriles**.

DÉVELOPPEMENT D'UNE STRATÉGIE ADAPTÉE AU MILIEU AFRICAÏN : LA CHIMIO-THÉRAPIE DE TOUS LES ACCÈS FEBRILES

Cette stratégie présente de nombreux avantages.

- Elle est efficace car, par le traitement précoce de l'accès fébrile, elle réalise une prophylaxie de l'accès pernicieux à *P. falciparum* et donc de la létalité paludéenne.
- Immunologiquement, elle préserve l'état de prémunition ou l'acquisition de l'immunité chez l'enfant.
- Elle favorise moins le développement des résistances aux antipaludiques car la pression sélective médicamenteuse y est plus faible que celle engendrée par une chimioprophylaxie régulière.
- Elle est à la fois bien perçue et bien acceptée par les populations puisqu'on répond à une symptomatologie bien connue, la fièvre, par une action thérapeutique simple ; cette stratégie est d'ailleurs déjà spontanément adoptée par les populations dans la mesure où elles

disposent d'antipaludéens de synthèse, ceci surtout en milieu urbain ; elle est donc plus facilement réalisable, et la participation des populations et des Services de santé primaire est rapidement acquise.

- Elle est peu onéreuse et demeure plus compatible avec les moyens financiers actuels des États.

On utilisera comme antimalarique, chez les sujets semi-immuns, une amino-4-quinoléine, la chloroquine ou l'amodiaquine, à la dose de 10 mg/kgp. *per os* en une dose unique. Cette dose peut être prescrite deux jours de suite chez les jeunes enfants et, dans tous les cas, en certaines zones d'Afrique de l'Est, où la sensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine est diminuée. Chez les sujets non immuns, la dose prescrite sera de 30 à 35 mg/kgp. répartis en trois à cinq jours. En cas d'accès palustre simple, résistant à la chloroquine, on peut utiliser l'association quinine-sulfadoxypyriméthamine ou l'un des deux produits (tableau I).

Nous pensons que la chimiothérapie systématique de tous les accès fébriles est la stratégie de choix, en général, pour l'Afrique inter-tropicale ; pour la développer, il est nécessaire de pouvoir distribuer l'antimalarique à travers toutes les zones concernées et, donc, d'améliorer nos connaissances quant aux circuits d'acheminement des médicaments jusque dans les zones les plus reculées.

La réalisation d'une véritable « chaîne » de l'antimalarique est une priorité. La distribution finale du produit peut se faire suivant plusieurs modalités : achat à un distributeur villageois de médicaments habilité à ne vendre que certains produits de base, achat à un agent de santé primaire, distribution de lots de médicaments à chaque famille pour une période déterminée, surtout si les familles vivent isolément en dehors d'un village, etc.

La stratégie doit s'appuyer sur une éducation sanitaire pour préciser la posologie et, sur l'avis des populations, pour choisir le mode de distribution de l'antimalarique ; à ce titre, le produit de choix semble être la chloroquine, bien connue des populations africaines.

La chimioprophylaxie hebdomadaire permet de lutter à la fois contre la morbidité et la mortalité palustre mais son application en zone d'endémie pose un certain nombre de problèmes : définition exacte des populations cibles, conséquences sur l'état immunitaire des individus et sur le développement des résistances des souches de *P. falciparum* aux antimalariques, « faisabilité » réelle de cette stratégie sur le terrain, coût important enfin pour la réalisation en campagne de masse.

Cette chimioprophylaxie est classiquement réalisée chez les enfants de moins de 2 ou 5 ans, chez les femmes enceintes à partir du cinquième mois de grossesse et chez certains groupes professionnels.

En Afrique, l'antipaludéen doit rester une amino-4-quinoléine, la chloroquine ou l'amodiaquine, et la posologie habituelle est de 10 mg/kgp. *per os*, en une seule prise hebdomadaire, en campagne de masse.

Cette stratégie, lorsqu'elle est correctement réalisée, augmente, surtout chez les enfants, le risque de sélection des souches de *P. falciparum* résistantes à l'antimalarique ; elle retarde l'acquisition de l'immunité, meilleur rempart contre les risques du paludisme

**PLACE DE LA
CHIMIO-
PROPHYLAXIE
DANS LE
CONTRÔLE DU
PALUDISME**

Tableau I. — Traitement de l'accès palustre en Afrique intertropicale.

	Chloroquine (Nivaquine) comprimé à 100 mg sirop 1 cm (cuillère mesure = 25 mg)		Amodiaquine (Flavoquine) comprimé à 200 mg
Âges	SUJETS NON IMMUNS (voyageurs, zones urbaines, zones à transmission épisode...	AUTOCHTONES ZONES IMPALUDÉES	AUTOCHTONES ZONES IMPALUDÉES
Adultes (14 ans et plus)	6 comprimés × 2 jours puis 3 comprimés × 2 jours puis 2 comprimés × 1 jour	6 à 8 comp. en une seule prise	3 comprimés en une seule prise
9-13 ans	4 comprimés × 2 jours 2,5 comprimés × 3 jours	3,5 comp.	2 comprimés en une seule prise
7-12 ans	3 comprimés × 2 jours 1,5 comprimés × 3 jours	2,5 comp.	1,5 comprimés en une seule prise
4-6 ans	2 comprimés × 2 jours 1,5 comprimés × 3 jours	1,5 comp.	1 comprimé en une seule prise
1-3 ans	1,5 c. (ou 6 cm) × 2 jours 1 c. (ou 4 cm) × 3 jours	1 c. (4 cm) × 2 jours	1/2 comprimé × 2 jours
moins de 1 an	1 c. (ou 4 cm) × 2 jours 1/2 c. (ou 2 cm) × 3 jours	0,5 c. (2 cm) × 2 jours	1/4 comprimé × 2 jours
En cas de résistance	Quinine (quinimax quiniforme) : • adultes : 1,5 g à 2 g <i>per os</i> ou en perfusion × 5 jours ; • 1-13 ans : 0,15 g par année d'âge × 5 jours ; • 6-12 mois : 0,10 g × 5 jours ; • 0-6 mois : 0,05 g × 5 jours. et/ou Sulfadoxine-pyriméthamine : • adultes : 3 comp. en une prise ou une I.M. de 2 ampoules ; • 9-13 ans : une I.M. de 1 à 1,5 ampoule ; • 4-8 ans : 3/4 ampoule I.M. ; • 0-4 ans : 1/4 à 3/4 ampoule I.M.		
Accès pernicieux	Quinine perfusion IV : • adultes : 1 g à 1,5 g/jour jusqu'à amélioration ; • enfants : 0,10 g par année d'âge/jour jusqu'à amélioration. Puis relais par chloroquine, amodiaquine ou sulfadoxy- pyriméthamine.		
Si réaction allergique à la chloroquine, traiter par amodiaquine ou Fansidar.			
Ne pas faire de quinine I.M. en cas d'accès simple sans vrai vomissement (risque chez le jeune enfant de nécrose, d'algodystrophie sciatique).			

mortel. On connaît la gravité de l'affection chez la femme enceinte, ses conséquences néfastes sur le nouveau-né ; une chimioprophylaxie évite ces risques mais diminue le niveau immunitaire de la mère et donc la transmission passive de l'immunité spécifique au fœtus.

Il y a quelques années, il avait été envisagé d'utiliser une « chimioprophylaxie » a minima qui, protégeant contre la survenue d'accès palustre, ne devait pas empêcher l'acquisition de l'immunité. Une étude de l'action chimioprophylactique de la chloroquine, à la dose hebdomadaire de 5 mg/kgp., avait été menée durant l'année 1972 chez 350 sujets d'un village de Haute-Volta à paludisme holoendémique (Picq, Roux et al.). Chez les sujets prophylactisés, on notait une chute des indices spléniques et plasmodiques au quart de la valeur des sujets témoins, une baisse du taux d'anticorps antipalustres d'autant plus marquée que les sujets étaient jeunes ; en particulier, dans les groupes d'âge sensible (1-3 ans), on voyait s'effondrer le taux d'anticorps. Aussi, cette conception de C.P. a minima reste théorique et n'a toujours pas montré son efficacité réelle sur les tranches d'âge les plus sensibles au « paludisme-maladie ».

En fait, si l'on considère ce qui est concrètement réalisé sur le terrain par rapport aux politiques officielles des Services de santé, on constate que la principale difficulté de la stratégie de chimioprophylaxie réside dans sa faible ou non - « faisabilité », surtout en milieu rural africain ; il est difficile d'imposer régulièrement la prise d'un médicament à titre prophylactique ; le coût de revient de cette stratégie est élevé.

Ces deux types de stratégie de contrôle du paludisme (chimioprophylaxie hebdomadaire par la chloroquine, 10 mg/kgp. ; chimiothérapie systématique des accès fébriles par le même antimalarique à une dose unique de 10 mg/kgp.) ont été étudiés dans douze villages de la région de Bobo-Dioulasso en Haute-Volta, de 1980 à 1982 (Baudon et al.).

La chimioprophylaxie, lorsqu'elle était correctement réalisée, a fait s'effondrer la prévalence paludique, a fait baisser très sensiblement les taux d'anticorps antipalustres fluorescents.

La chimiothérapie des accès fébriles n'a eu qu'une faible action sur la prévalence paludique et n'a pas modifié l'état immunitaire des populations. Il n'y a pas eu de différence de mortalité entre les populations soumises chacune à l'une des deux stratégies. La consommation de chloroquine a été environ cinq fois plus importante dans les zones sous chimioprophylaxie. Enfin, la stratégie de chimiothérapie des accès fébriles est bien acceptée par les populations ; elle est de réalisation beaucoup plus facile dans le cadre de la prise en charge de la stratégie par la population elle-même.

Chez les voyageurs, les travailleurs non immuns, venant d'une zone indemne de paludisme et séjournant pour un temps limité en zone d'endémie palustre, la chimioprophylaxie antipaludéenne ne se discute pas. Elle doit utiliser en Afrique une amino-4-quinoléine à la dose hebdomadaire de 10 mg/kgp. Cette prophylaxie doit s'étendre durant tout le séjour et pendant deux mois après le retour en zone indemne.

En matière de stratégie de contrôle, il faut se méfier de toutes positions rigides, de conclusions trop générales. La nécessité d'une chimioprophylaxie de masse est à considérer en fonction des paludismes, des moyens logistiques dont on dispose. Actuellement, une

**Chimio-
prophylaxie
chez les sujets
non immuns**

chimio prophylaxie ne devrait pas être effectuée dans les zones à transmission palustre continue ; elle pourrait être éventuellement justifiée dans des régions à transmission très épisodique, en milieu sahélien, par exemple, et dans certains cas seulement.

La lutte antivectorielle, éventuellement associée à des mesures thérapeutiques, permet de diminuer l'incidence du paludisme. La méthode la plus efficace pour lutter contre les anophèles reste l'aspersion intradomiciliaire d'insecticides à effet rémanent ; le choix actuel du produit est difficile, de par les problèmes de résistance ; le coût des nouveaux insecticides est beaucoup plus élevé. Il est donc nécessaire, avant d'aborder toute action antivectorielle, d'étudier l'aspect épidémiologique du paludisme en cause, de connaître la bio-écologie des vecteurs, et d'évaluer les moyens financiers nécessaires et disponibles. On sait que les campagnes de désinsectisation doivent être répétées et leur interruption, par manque de moyens financiers, par exemple, laisse, face à une reprise de la transmission, des populations exposées à un risque de mortalité palustre accru par diminution de leurs défenses immunitaires.

L'utilisation des moustiquaires reste l'un des meilleurs moyens individuels d'autodéfense contre l'anophèle. Des études menées au Centre Muraz (Carnevale et al.) ainsi qu'à l'école de médecine et de pharmacie de Bamako (Ranque et al.) ont montré l'efficacité des moustiquaires imprégnées d'insecticides.

La lutte antilarvaire complète la lutte antivectorielle, surtout si les aspersions d'insecticides sont difficiles à réaliser ou inefficaces et si la transmission est le fait d'anophèles exophiles. Elle est difficilement applicable, en pratique, en milieu rural où les gîtes larvaires sont nombreux et disséminés mais peut éventuellement être utilisée là où les gîtes sont rares (régions sèches, zones urbaines et pré-urbaines) temporairement et dans le cadre de campagne générale d'assainissement. Elle serait un recours ultime en cas d'extension de la résistance de *P. falciparum* aux antimalariques dans les zones à anophèles exophiles.

Il est difficile, actuellement, d'évaluer la place qu'auraient les vaccins dans la lutte contre la morbidité et la mortalité palustre. On ne sait pas encore de manière précise le ou les types de vaccins utilisés. Un des intérêts des vaccins est qu'ils n'entraînent pas par eux-mêmes des risques d'accroissement des chimiorésistances ; à l'inverse, le coût des campagnes de masse sera probablement très élevé. De toute façon, le vaccin ne résoudra pas à lui seul le problème des paludismes en Afrique intertropicale ; en effet, nous disposons actuellement de vaccins très efficaces, par exemple contre la fièvre jaune, le tétanos, la poliomyélite, la rougeole ; cela n'a pas suffi à éliminer ces affections des pays ; il se pose donc toujours le problème de la « faisabilité » de la stratégie de vaccination sur le terrain, à grande échelle.

La vaccination sera un moyen utile, efficace mais qui, en association avec d'autres moyens de lutte, permettra un meilleur contrôle des paludismes.

PLACE DE LA LUTTE ANTI- VECTORIELLE DANS LE CONTRÔLE DES PALUDISMES

**Aspersion intra-
domiciliaire
d'insecticides
rémanents**

**Lutte
antilarvaire**

**LE VACCIN
DANS LA LUTTE
ANTIPALUDIQUE**

Les stratégies de lutte antipaludique classiquement préconisées en Afrique intertropicale n'ont pas été suivies d'une régression à long terme de l'endémie palustre, en milieu rural ; en milieu urbain, presque naturellement, on note une baisse de la prévalence palustre. Ceci est dû essentiellement à des raisons socio-économiques, techniques et logistiques. L'endémie palustre est profondément enracinée dans les conditions de l'environnement des pays intertropicaux africains et il serait illusoire de croire qu'on puisse éliminer cette affection sans l'apport du développement socio-économique. En attendant que ce développement économique ait atteint un niveau suffisant pour envisager un contrôle réel du paludisme, surtout en milieu rural, grâce à l'utilisation alors plus efficace des moyens d'action directe (lutte antivectorielle, lutte antiplasmodiale) ou en attendant l'association avec d'autres moyens de lutte (vaccination, par exemple), nous préconisons une stratégie de relais, « la chimiothérapie systématique de tous les accès fébriles » par une amino-4-quinoléine, chloroquine ou amodiaquine ; elle permet de lutter d'ores et déjà contre la mortalité liée à la maladie paludéenne, diminue le risque d'apparition d'un certain nombre d'inconvénients liés à la chimioprophylaxie de masse en zone d'endémie (résistance aux médicaments, problèmes immunitaires...). Elle est plus facilement réalisable sur le terrain à grande échelle, bien acceptée par les populations ; elle peut s'intégrer dans le cadre des soins de santé primaire.

CONCLUSION

- BAUDON (D.), ROUX (J.), CARNEVALE (P.) et GUIGUEMDE (T.R.), 1983. La chimiothérapie systématique des accès fébriles ; une stratégie de relais dans la lutte contre le paludisme en milieu rural. *Med. Trop.*, 43 (4) : 341-345.
- BRUCE-CHWATT (L.J.), 1981. *Chemotherapy of malaria*. Geneva, W.H.O., 262 p.
- BRUCE-CHWATT (L.J.), 1979. Man against malaria : conquest or defeat. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 73 : 605-617.
- BRUCE-CHWATT (L.J.), 1980. La chimiothérapie antipaludique cent ans après Laveran ; problèmes et perspectives. *Med. Trop.*, 40 (6) : 651-656.
- Cahiers O.R.S.T.O.M., 1980. Compte rendu des conférences et communications présentées au symposium Laveran sur la biologie, l'épidémiologie et l'immunologie du paludisme. *Série Ent. Méd. et Parasit.*, XVIII (2), 186 p.
- CHARMOT (G.), 1969. La chimioprophylaxie collective dans le contrôle du paludisme. *Trans. Roy. Soc. Trop. Méd. Hyg.*, 63 (4) : 31.
- Chimioprophylaxie du paludisme. *Relevé épidémiologique hebdomadaire*, 1982, 57 (49) : 382-384.
- CHOUMARA (R.), HAMON (J.), RICOSSE (J.H.) et BAILLY-CHOUMARA (M.), 1959. Observations sur le paludisme en zone pilote de lutte antipaludique de Bobo-Dioulasso (Haute-Volta). Monographie O.R.S.T.O.M., cahier n° 1.
- DIALLO (S.), DIOUF (F.), VICTORIUS (A.), NOIR (O.), BAM (I.B.), 1980. Conséquences cliniques de la chimioprévention et de son arrêt en zone d'hyperendémie palustre. Rapport final I^{er} Congrès de la Société ouest-africaine de parasitologie, Dakar, décembre 1980.
- FARID (M.A.), 1980. The malaria programme, from euphoria to anarchy. *World Health Forum*, 1 : 8-20.
- IVORRA Cano V, 1982. Lutte antipaludique. Rapport final XIV^e Conférence tech. O.C.E.A.C., Yaoundé, avril 1982.
- KOUZNETZOV (R.), 1979. Review of past and present experience in the use of drugs for malaria control in tropical Africa. Unpub. doc. W.H.O./M.A.L., 79.912.

BIBLIOGRAPHIE

- MICHEL (R.), 1982. Conditions et modalités de la chimioprophylaxie antipaludique en Afrique intertropicale. Rapport final XIV^e Conférence tech. O.C.E.A.C., Yaoundé, avril 1982.
- NAJERA (J.A.), SHIDRAWI (G.R.), STOREY (J.) and LIETAERT (P.E.A.), 1973. Mass drug administration and D.D.T. indoor-spraying as antimalarial measures in the northern savanna of Nigeria. Unpub. doc. W.H.O./M.A.L., 73.817.
- O.M.S., 1981. Stratégie régionale de lutte antipaludique. Rapport du directeur général, O.M.S. Comité régional de l'Afrique, A.F.R./R.C. 31/15.
- PICQ (J.J.), ROUX (J.), MARCADET (Y.), ETIENNE (J.) et LAFAYE (A.), 1976. Variations des indices paludométriques et anticorps antipalustres décelés par immunofluorescence en zone déholoendémie à *P. falciparum* chez des sujets soumis à une chimioprophylaxie par la chloroquine et chez des sujets non soumis à la chimioprophylaxie. Doc. non pub. W.H.O./M.A.L., 76.866.
- RICOSSE (J.H.), PICQ (J.J.), COZ (J.) et CHARMOT (G.). Faits nouveaux relatifs à l'épidémiologie et au contrôle du paludisme en Afrique francophone. *Trans. Roy. Soc. Méd. Trop. Hyg.*, 1969, 63 (4) : 36-41.
- RICOSSE (J.H.), CHARMOT (G.), COZ (J.) et PICQ (J.J.). Le paludisme et ses aspects particuliers en Afrique tropicale francophone. *Etudes médicales*, 1970, n° 1.
- ROUX (J.), BAUDON (D.), CARNEVALE (P.), GUIGUEMDE (T.R.) et PICQ (J.J.), 1983. La chimioprophylaxie collective du paludisme ; ses objectifs, ses limites, ses difficultés. *Méd. Trop.*, 43 (4) : 347-354.
- WALKER, 1981. Attitudes to malaria prophylaxy. *British Med. J.*, 280 (6) : 288.
- WERNSDORFER (W.H.), 1981. Aims, concept and recent results of basic malaria research. Unpub. doc. W.H.O./M.A.L., 81.950

IMPACT DE L'UTILISATION DES MOUSTIQUAIRES PRE-IMPREGNEES DE PERMETHRINE SUR LA TRANSMISSION DU PALUDISME DANS UN VILLAGE HYPERENDEMIQUE DU SENEGAL

O. FAYE, L. KONATE, O. GAYE, D. FONTENILLE, N. SY, A. DIOP, M. DIAGNE, J-F. MOLEZ

RESUME • L'efficacité des moustiquaires imprégnées de perméthrine a été évaluée à Wassadou, village à haut niveau de transmission du paludisme, en zone de savane soudanienne du Sénégal. L'évaluation de l'impact de l'utilisation de masse de ces moustiquaires sur les populations vectorielles et sur la transmission du paludisme a été réalisée de juin à novembre 1995, au cours de la saison des pluies, principale saison de transmission. Dans cette étude conduite avec un village témoin non doté de moustiquaires, il apparaît que les moustiquaires imprégnées de perméthrine ont entraîné une forte réduction de la densité des populations vectorielles et de la transmission du paludisme : en données corrigées, la réduction du taux d'agressivité sur homme d'*Anopheles gambiae* s. l. a été de 69 %, sa densité au repos durant la journée à l'intérieur des habitations a diminué de 91 % pour les femelles gorgées et de 96 % pour les femelles gravides. L'indice sporozoïtique des femelles capturées sur homme a été réduit de 76 % et le taux quotidien d'inoculation entomologique de 88 %. Cette réduction n'a cependant pas été suffisante pour supprimer le risque d'infection des habitants. L'évaluation de l'intervention sur une période plus longue, de l'ordre de 4 à 5 ans, devrait permettre de préciser l'impact d'un usage à long terme des moustiquaires imprégnées d'insecticide sur l'inféctivité des vecteurs et la transmission du paludisme.

MOTS-CLES • Moustiquaires imprégnées - Perméthrine - Anophèles - Paludisme - Transmission - Sénégal.

IMPACT OF PERMETHRIN-TREATED BEDNETS ON MALARIA TRANSMISSION IN A HYPERENDEMIC VILLAGE OF SENEGAL

ABSTRACT • The efficacy of permethrin-treated bednets was evaluated in Wassadou, a hyperendemic village located in the Sudanese grasslands of southeast Senegal. Pretreatment data were collected between 1992 and 1993. Bednets were distributed to the whole population in June 1995 and impact of their use on vector populations and malaria transmission was evaluated until November 1995. This period corresponds to the rainy season during which malaria transmission is highest. Data were compared with a control village in which bednets were not distributed. Findings showed that use of bednets led to a sharp decrease in the density of the vector population and malaria transmission. The number of bites by *Anopheles gambiae* s.l. decreased 69 %. The density of blood-laden and pregnant females inside dwellings decreased 91 % and 96 % respectively. The sporozoite index of females captured on the skin decreased 76 % and the daily rate of entomological inoculation decreased 88 %. This impact was not great enough to eliminate the risk of infection. Prolonged study over a period of 4 to 5 years is needed to evaluate the impact of long-term use of insecticide-treated bednets on vector population and malaria transmission.

KEY WORDS • Insecticide-treated bednets - Permethrin - Anopheles - Malaria - Transmission - Senegal.

Med. Trop. • 1998 • 58 • 355-360

• Travail du Département de Biologie Animale (O.F., L.K., N.S., A.D., Biologistes) de la Faculté des Sciences et Techniques, et du Laboratoire de Paludologie (O.G., Docteur en Médecine) de la Faculté de Médecine, Université Cheikh Ania Diop de Dakar, du Laboratoire de Zoologie Médicale (D.F., Biologiste) et du Laboratoire de Paludologie (J-F.M., Directeur de Recherches) de l'IRD-Orstom de Dakar, et du Service de Lutte Antiparasitaire (M.D., Entomologiste), SLAP-Direction de l'Hygiène et de la Santé Publique, Thiès, Sénégal.

• Correspondance : O. FAYE, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, UCAD, BP 5005, Dakar, Sénégal • Fax. : 00 221 825 25 29 • e-mail : parasito@syfede.refer.sn •

• Article reçu le 24/11/1997, définitivement accepté le 20/11/1998.

En Afrique tropicale, le paludisme représente un problème majeur de santé publique. La principale mesure de lutte contre cette endémie est la prise en charge correcte des cas morbides. L'apparition et l'extension de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques usuels dont la chloroquine ont ravivé l'intérêt pour la lutte antivectorielle. Cette dernière a été couramment réalisée par aspersion intradomiciliaire d'insecticides rémanents. Si cette méthode de lutte reste encore efficace, sa mise en œuvre se heurte à de nombreuses contraintes techniques et économiques.

D'importants efforts ont été fournis dans la recherche d'outils et de méthodes de lutte adaptés aux conditions épidémiologiques et acceptés par les communautés. L'utilisation des moustiquaires de lits est un moyen efficace de protection individuelle contre les piqûres de moustiques et, en Afrique, leur emploi est très répandu dans certaines communautés, même si elles ne sont pas toujours bien entretenues ou sont mal utilisées.

De nombreux essais ont été réalisés pour évaluer l'efficacité de l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide dans la lutte antipaludique en Afrique. Ils montrent que l'usage généralisé de ces moustiquaires entraîne une réduction des populations vectorielles et de la transmission (1-4), de la morbidité et de la mortalité dues au paludisme (5-8). Mais la variabilité de l'endémie palustre en termes d'infection, de morbidité et de mortalité selon les situations écologiques, rend difficile toute extrapolation des résultats obtenus dans les zones étudiées à d'autres zones d'endémie palustre.

Au Sénégal, l'effet des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine sur le paludisme a été étudié uniquement dans la vallée du fleuve, dans une zone sahélienne à faible niveau de transmission. Il était donc nécessaire d'évaluer leur impact dans d'autres zones écologiques pour déterminer leur acceptabilité et la pérennité de leur utilisation. Sont présentés dans ce travail, les résultats enregistrés sur les vecteurs et la transmission du paludisme au cours d'un essai réalisé dans un village de savane soudanienne situé dans le sud-est du Sénégal.

MATERIEL ET METHODES

Zone d'étude.

L'étude a été menée à 400 kilomètres au sud-est de Dakar, dans la région de Tambacounda. Cette dernière appartient au domaine soudanien, caractérisé par l'alternance d'une saison sèche et d'une saison des pluies qui dure en général de mai/juin à octobre/novembre avec un maximum de précipitations de juillet à septembre. La pluviométrie annuelle enregistrée à la station de Dialakoto située à une quinzaine de kilomètres des villages d'étude, était de 884,7 mm en 1992, 661,2 mm en 1993, 1 054,1 mm en 1994 et 550,2 mm en 1995. Les températures moyennes mensuelles varient de 24°C à 31°C avec un maximum en avril et un minimum en décembre, la température moyenne annuelle étant de 28°C.

L'intervention a eu lieu de juin à novembre 1995 dans le village de Wassadou situé à 50 kilomètres de la ville de Tambacounda, le village témoin (Badi) étant distant de 3 kilomètres de Wassadou. Les villages de Wassadou et de Badi sont implantés respectivement à environ 1 et 2 kilomètres d'un affluent du fleuve Gambie, le Niériko. Les habitants pratiquent l'agriculture pluviale : mil, maïs et coton. L'élevage est bien développé ; des troupeaux de bovins sont parqués à la fin de la saison des pluies à proximité des habitations ; les moutons, chèvres, chevaux et ânes ainsi que la volaille restent en permanence dans les concessions. L'habitat est de type traditionnel ; les cases sont construites avec des murs en briques et des toits en chaume. Aucune mesure de lutte antipaludique n'était encore menée dans ces villages distants de 15 à 18 kilomètres du poste de santé le plus proche. L'usage de mesures de prévention et d'antipaludiques comme la chloroquine y était fort limité.

Données de base.

Dans le village de Wassadou, la transmission du paludisme est saisonnière longue. La dynamique des populations anophéliennes est sous la dépendance des pluies et de la proximité du cours d'eau. Les études menées dans ce village en 1992-1993 (9) ont montré qu'*Anopheles gambiae* s.l. y est le principal vecteur du paludisme. Les femelles d'*Anopheles funestus*, autre vecteur du paludisme, manifestent dans ce village une forte zoophilie qui réduit leur contribution à la transmission du paludisme (9).

Le complexe *Anopheles gambiae* est représenté par *Anopheles gambiae* s.s et *Anopheles arabiensis*, constituant respectivement 75,2 % et 24,8 % des 496 femelles identifiées par la méthode cytogénétique (10) ou par PCR (11, 12). Les proportions de ces deux espèces présentent des fluctuations saisonnières notables : *Anopheles gambiae* s.s. représente 91,1 % des 403 femelles d'*Anopheles gambiae* s.l. collectées de juillet à octobre et *Anopheles arabiensis*, 93,5 % des 93 femelles collectées de novembre à juin. Leur taux moyen d'agressivité, estimé de novembre 1992 à octobre 1993 à 22 piqûres/homme/nuit (PHN) pour l'homme (TAH), est plus élevé à l'intérieur qu'à l'extérieur. Il a varié de 4 PHN de novembre 1992 à juin 1993 à 60 PHN de juillet à octobre 1993. La densité au repos durant la journée à l'intérieur des habitations (DRI) d'*Anopheles gambiae* s.l. est plus importante au cours de la saison des pluies ; la DRI moyenne annuelle s'élève à 12 femelles/case. L'analyse des variations saisonnières du TAH et de la DRI révèle une nette endophilie des femelles d'*Anopheles gambiae* s.l. en saison sèche tandis qu'en saison des pluies, une importante fraction de la population est exophile.

Les femelles d'*Anopheles gambiae* s.l. sont très anthropophiles dans la zone. L'indice d'anthropophilie, estimé à partir de l'identification par ELISA (13) de l'origine de 959 repas sanguins analysés, est de 0,88. Les indices enregistrés de juillet à octobre (0,91) et de novembre à juin (0,86) sont significativement différents ($p < 0,02$). Cette variation pourrait être liée à la prédominance d'*Anopheles arabiensis* et à la présence des troupeaux de bovins à proximité des habitations en saison sèche. Les repas sanguins pris sur les bovins représentent 9,3 % des repas identifiés en saison sèche et seulement 0,4 % de ceux identifiés en saison des pluies. Le taux d'infection des femelles d'*Anopheles gambiae* s.l. est élevé de juin à janvier. L'identification spécifique des plasmodies et des femelles infectées montre que toutes les infections sont dues à *Plasmodium falciparum* et que seules les femelles d'*Anopheles gambiae* s.s. sont infectées.

Le taux d'inoculation entomologique (TIE), estimé de novembre 1992 à octobre 1993, s'élève à 220 piqûres infectées par homme (PIH). Il est de 17 PIH de novembre 1992 à juin 1993 et de 203 PIH de juillet à octobre 1993 (9).

Méthodes d'évaluation.

• Enquête démographique

Une enquête démographique a été effectuée en mars 1995. A Wassadou, 132 concessions habitées, 291 cases, 793 habitants, 425 lits ou nattes de couchage et 55 moustiquaires ont été dénombrés. A Badi, 53 concessions, 183 cases, 416 habitants, 234 lits et 95 moustiquaires ont été dénombrés. En juillet 1995, 32 nouveaux habitants (travailleurs saisonniers) ont été recensés à Wassadou. Dans ce village, un important mouvement de population est entretenu par le marché hebdomadaire où convergent de nombreux commerçants, passant en moyenne 1 à 3 nuits par semaine dans le village.

• *Moustiquaires utilisées*

Les moustiquaires ont été distribuées à Wassadou à la fin du mois de juin 1995. Il s'agit de moustiquaires pré-imprégnées de perméthrine à la concentration de 2 % (Olyset Net®), en polyéthylène avec des mailles de 4x4 mm, de couleur bleue et de type *single* (70x180x150 cm). Cette taille est petite pour couvrir des lits à deux places. De nombreux habitants disposant de grands lits ont réuni 2 moustiquaires pour obtenir une moustiquaire adaptée aux dimensions de leurs lits et le travail de confection a été bien fait. La crainte que les moustiquaires prévues pour les enfants ne soient utilisées pour l'agrandissement de celles des parents nous a amené à encourager une telle modification en complétant les unités manquantes. Au total, 520 moustiquaires ont été distribuées à Wassadou. Les habitants de Badi ont reçu leur dotation en janvier 1996.

• *Population de moustiques*

L'échantillonnage des populations de moustiques a été effectué par des captures nocturnes sur adultes volontaires humains (sous chimio prophylaxie médicamenteuse) et des récoltes diurnes de la faune résiduelle après pulvérisation de solution de pyréthrinolide (Yotox® (aérosol) 1LS 36 OZ) dans les habitations. Les captures nocturnes ont été faites de 21 heures à 7 heures à l'intérieur et à l'extérieur des habitations dans trois stations de chaque village soit 58 hommes-nuits à Wassadou et 56 à Badi et les récoltes diurnes le matin (7 h-10 h) ou l'après midi (16 h pour les femelles semi-gravides) dans 85 cases à Wassadou et 79 cases à Badi. Les cases choisies à Wassadou ont été celles dans lesquelles était installée une moustiquaire et dont tous les occupants ont apparemment dormi sous moustiquaire. Les moustiques récoltés ont été identifiés et dénombrés, les femelles des vecteurs ont été disséquées pour déterminer leur âge physiologique par l'examen des trachéoles des ovaires et rechercher des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires.

• *Sensibilité à la perméthrine*

La sensibilité d'*Anopheles gambiae* s.l. à la perméthrine (produit d'imprégnation) à Dakar a été évaluée avec des femelles entretenues en insectarium et des femelles sauvages issues de larves récoltées dans les gîtes. La souche d'élevage et les femelles sauvages appartiennent à *Anopheles arabiensis*. A Wassadou, la sensibilité à la perméthrine a été évaluée avec des femelles capturées sur sujets humains. Les tests ont été réalisés d'une part par une mise en contact des femelles à jeun avec une moustiquaire imprégnée de perméthrine à la concentration de 2 % et d'autre part, par une exposition d'une

heure, selon la méthode OMS, à des papiers imprégnés de perméthrine à la concentration diagnostique de 0,25 %.

Pour la moustiquaire, un lot de 10 femelles y a été libéré. Après 3 ou 5 minutes de contact, les femelles ont été récupérées par un aspirateur et remises dans des gobelets où elles ont reçu comme nourriture, une solution de sucrose à 10 %. La mortalité a été évaluée immédiatement, 1 heure et 24 heures après. Un lot témoin de 10 femelles a également été observé.

Pour les papiers, les femelles ont été maintenues en contact avec le support imprégné par lot de 20. A la fin du temps de contact (60 minutes), elles ont été mises dans des gobelets et leur mortalité a été comparée à celle d'un lot témoin après 24 heures d'observation. L'effet *knock down* (KD) a également été noté à 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 et 120 minutes, au cours de l'heure d'exposition avec le papier imprégné et de l'heure qui suivait.

• *Analyse statistique*

La réduction brute des densités de population culicidiennes suite à l'introduction des moustiquaires a été estimée en comparant les données obtenues à Wassadou avant et pendant l'intervention. En considérant comme valeurs corrigées (ou attendues) celles obtenues dans le village témoin de Badi, la réduction corrigée a été estimée en comparant les données obtenues à Wassadou pendant l'intervention à celles recueillies à Badi. Le test du khi carré a été utilisé pour le traitement statistique des données.

RESULTATS

Dans la zone, les anophèles représentaient plus de 80 % des moustiques piquant l'homme. La faune anophélienne était composée de huit espèces : *Anopheles gambiae* s.l., *Anopheles funestus*, *Anopheles pharoensis*, *Anopheles ziemanni*, *Anopheles squamosus*, *Anopheles rufipes*, *Anopheles nili* et *Anopheles welcomei*. *Anopheles gambiae* s.l. était prédominant dans les captures nocturnes comme dans les récoltes de la faune résiduelle.

Le taux moyen d'agressivité sur homme (TAH) des anophélinés a subi une réduction brute de 60 % et celui des culicinés de 51 %. La réduction corrigée a été de 68 % pour les anophélinés et de 36 % pour les culicinés. La réduction

Tableau I - Résultats des captures nocturnes sur homme dans le village de Wassadou et dans le village-témoin de Badi (captures intérieures (I) et extérieures (E)), de juillet à novembre 1993 et 1995.

	Wassadou (Village d'étude)						Badi (Village témoin)			Taux de réduction	
	1993			1995			1995			brut	corrigé
	I	E	Total	I	E	Total	I	E	Total	Total	Total
Taux moyen d'agressivité sur homme	8738	7465	7818	2058	2706	2382	6331	8744	7494	69,5	68
Nombre de femelles examinées	582	278	860	292	415	707	604	511	1115		
Nombre de femelles pares	448	200	648	199	292	491	476	447	923		
Taux de parturité (%)	76,9	71,9	75,3	68,2	70,4	69,4	78,8	87,5	82,8	7,8*	16
Nombre de femelles disséquées	438	266	704	295	416	711	553	454	1007		
Nombre de femelles infectées	12	4	16	1	3	4	5	10	15		
Indice sporozoïtique (%)	2,74	1,5	2,3	0,34	0,72	0,56	0,9	2,2	1,5	76	63
Nombre de piqûres infectantes par homme	239	112	180	7	19	13	57	192	112	93	88,4

* Baisse de 2 % pour les femelles exoptages

Tableau II - Résultats des récoltes de faune matinale résiduelle (FMR) dans le village de Wassadou et le village-témoin de Badi (anophèles au repos à l'intérieur), de juillet à novembre 1993 et 1995.

	Wassadou		Badi Total 1995	Taux de réduction (%)	
	Total 1993	Total 1995		brut	corrige
Nombre de femelles collectées	1813	113	1114	94	90
Densité anophélienne résiduelle intérieure	23,9	15,6	49	64	68
- nombre de femelles à jeun	72	3	66		
- nombre de femelles gorgées	943	80	544	91	85
- nombre de femelles gravides	798	30	504	96	94
Nombre de femelles examinées	435	39	321		
Nombre de femelles pares	313	26	266		
Taux de parturité (%)	72	67	83	7	19

brute du TAH d'*Anopheles gambiae* s.l. a été de 69 % et elle a été plus élevée à l'intérieur (76 %) qu'à l'extérieur (64 %). La réduction corrigée a été de 68 %, sans variation importante entre intérieur (68 %) et extérieur (69 %) (Tableau I).

Dans la faune résiduelle, la réduction brute de la DRI a été de 95 % pour les anophélinés et de 80 % pour les culicinés. La réduction corrigée a été de 90 % (anophélinés), elle a été nulle chez les culicinés. Pour *Anopheles gambiae* s.l., la réduction de la DRI a été très importante pendant toute la période d'évaluation. Elle a été de 91 % et 96 % respectivement chez les femelles gorgées et gravides (Tableau II). La proportion de femelles gorgées et/ou gravides n'était pas significativement différente à Wassadou et à Badi ($p > 0,10$).

L'effet des moustiquaires imprégnées sur les densités des populations d'*Anopheles gambiae* s.l. a varié au cours de l'évaluation, la réduction du TAH a été plus faible en août et en septembre (Tableau III). Le taux de parturité (TP) des femelles d'*Anopheles gambiae* s.l. était significativement plus élevé à Badi qu'à Wassadou, tant pour les femelles capturées sur homme ($p < 0,001$) que pour celles récoltées dans la faune résiduelle ($p < 0,02$). A Wassadou, le TP des femelles capturées sur homme à l'intérieur et à l'extérieur des habitations n'était pas significativement différent en 1995 ($p > 0,3$) tandis qu'en 1993, les femelles endophages étaient significativement plus âgées ($p < 0,001$). A Badi, le TP des femelles exophages était significativement plus élevé que celui des femelles endophages ($p < 0,001$). A Wassadou, le TP des

femelles capturées sur homme a subi une réduction brute de 8 % (la réduction était de 11 % à l'intérieur alors qu'une hausse de 2 % a été observée à l'extérieur), la réduction corrigée a été de 16 % (13 % à l'intérieur et 19 % à l'extérieur). Dans la faune résiduelle, la réduction du TP a été plus élevée (12 % à 22 %).

A Wassadou, l'indice sporozoïtique (IS) des femelles d'*Anopheles gambiae* s.l. capturées sur homme en 1995 était significativement plus faible que celui observé en 1993 ($p < 0,001$). Les réductions brute et corrigée de l'IS ont été respectivement de 76 % (intérieur : 88 % ; extérieur : 52 %) et de 63 % (intérieur : 62 % ; extérieur : 67 %). Les IS des femelles capturées sur homme en 1995 à Wassadou et à Badi étaient comparables ($p > 0,05$). Dans les deux villages, l'IS moyen des femelles endophages et exophages n'était pas significativement différent. Il en était de même en 1993 à Wassadou.

Le taux quotidien d'inoculation entomologique (TIE) d'*Anopheles gambiae* s.l., estimé à Wassadou de juillet à novembre 1993, était de 207 piqûres infectées par homme (PIH) à l'intérieur et 148 PIH à l'extérieur, le taux moyen étant de 178 PIH (Tableau I). Au cours de la même période en 1995, il était de 13 PIH (7 à l'intérieur et 19 à l'extérieur). La réduction brute a été de 93 % (97 % à l'intérieur et 83 % à l'extérieur). A Badi, le TIE était plus élevé à l'extérieur (192 PIH) qu'à l'intérieur (57 PIH), le taux moyen était de 112 PIH. La réduction corrigée était donc de 88 % (88 % à l'intérieur et 90 % à l'extérieur).

Tableau III - Variations mensuelles du taux d'agressivité sur homme (TAH) exprimé en nombre de piqûres/homme/nuit (PHN), du taux de parturité (TP), de l'indice sporozoïtique (IS) et du nombre de piqûres infectées par homme (PIH) dans le village de Wassadou et dans le village-témoin de Badi, de juillet à novembre 1993-1995, avant et pendant l'intervention..

	Wassadou (Village d'étude)												Badi (Village-témoin) 1995					
	1993						1995											
	TAH (PHN)	D (O)	TP (%)	D (G)	IS (%)	(PIH) (n)	TAH (PHN)	D (O)	TP (%)	D (G)	IS (%)	(PIH) (n)	TAH (PHN)	D (O)	TP (%)	D (G)	IS (%)	(PIH) (n)
Juillet	80,8	216	47,7	126	3,2	79	6,3	74	85,1	74	2,7	5,3	18,2	157	82,8	106	0	0
Août	50,3	264	92,8	230	2,6	40,7	26,1	239	62,8	247	0,4	3,3	61,7	190	64,7	202	0,5	9,5
Septembre	136,5	160	73,7	177	1,1	46,3	35,6	263	71,9	261	0,4	4,1	83,5	283	88,0	278	1,8	45
Octobre	24,5	187	84,5	147	2,0	15,5	9,6	107	67,3	105	0	0	52,1	267	82,4	262	0,8	12,3
Novembre	5	33	72,7	24	4,2	6,2	2,0	24	70,8	24	0	0	33,7	218	92,2	159	4,4	44,5

D = nombre de femelles disséquées . (O) ovaires et (G) glandes salivaires.

Tableau IV - Résultats des tests de sensibilité à la perméthrine d'*Anopheles gambiae* s.l., comparaison entre les femelles sauvages (Wassadou et Dakar) et d'élevage (Dakar).

Temps d'exposition (en mn) Origine des femelles	Moustiquaires imprégnées de perméthrine à 2%			Papiers imprégnés de perméthrine à 0,25%	
	Wassadou (5') sauvages	(3') élevage*	Dakar (5') élevage*	(60') élevage*	(60') sauvages
Effectif total testé	230	275	982	102	52
Exposition					
KD 10'				0	0
KD 15'				0	4
KD 20'				4	9
KD 30'				14	21
KD 45'				29	29
KD 60'		230	245	48	35
Observation					
KD 90'				48	32
KD 120'				53	36
Mortalité au bout de 24 heures	230	256		46	40
Mortalité (%)	100	93,1		45,1	76,9
Mortalité (%) des témoins non exposés (effectif)	2 (100)		1,8 (219)		0 (65)

KD = effet de choc (*Knock-Down*)

* élevage en insectarium à Dakar

Les tests effectués dans la zone d'intervention avec une des moustiquaires distribuées ont montré une sensibilité normale à la perméthrine d'*Anopheles gambiae* s.l. (avec une prédominance d'*Anopheles gambiae* s.s.), la mortalité a été de 100 % après 5 minutes de contact (Tableau IV). A Dakar, le taux de mortalité d'*Anopheles arabiensis* a été de 89 % après 3 minutes et de 96 % après 5 minutes avec la même moustiquaire. Avec le papier imprégné à la concentration diagnostique, le taux de mortalité d'*Anopheles arabiensis* était inférieur à 50 % pour la souche d'élevage et était de 77 % pour les femelles sauvages. L'effet de KD était observé plus tôt et il était plus important chez les femelles sauvages que pour la souche d'élevage (Tableau IV).

DISCUSSION

L'Olyset Net® est un nouveau type de moustiquaire pré-imprégnée dans laquelle la perméthrine est incorporée par fusion dans la fibre. Son utilisation ne nécessite pas de formation aux techniques d'imprégnation par absorption où des molécules d'adhésion assurent la fixation du produit actif aux fibres. L'étude a permis d'évaluer l'efficacité de ce nouvel outil sur certains paramètres entomologiques de la transmission du paludisme dans une zone de haute endémicité. Avant l'intervention, à Wassadou et à Badi, le village témoin, la densité agressive d'*Anopheles gambiae* s.l. au cours de la période allant de juillet à octobre varie peu : chaque habitant reçoit en moyenne 7 500 à 7 800 piqûres. L'intervention a entraîné une réduction de la densité agressive des moustiques. L'impact des moustiquaires imprégnées d'insecticide n'est pas homogène : il est plus important pour *Anopheles gambiae* s.l. que pour les autres espèces culicidiennes, moins bien représentées. La réduction de la densité des populations anophéliennes en général et d'*Anopheles gambiae* s.l. en parti-

culier est sans effet sur le comportement de piqûre. Les femelles cherchent leurs repas sanguins à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, elles piquent et se reposent ou non dans les habitations. Les femelles endophages peuvent soit mourir sous l'effet de l'insecticide si elles entrent en contact avec les moustiquaires soit quitter les habitations si elles sont exophiles ou si les moustiquaires ont un effet répulsif. La comparaison des tendances exophiles des femelles d'*Anopheles gambiae* s.l. à Wassadou (1993 et 1995) et à Badi (1995) révèle une exophilie beaucoup plus forte en 1995 qu'en 1993 dans ces deux localités, ce qui suggère l'existence d'un effet répulsif de l'insecticide.

La survie de femelles nourries sur homme ou sur animal assure la production de nouvelles générations de femelles. Ceci explique le maintien d'une population agressive même réduite durant la période d'intervention. Cette hypothèse sur la survie d'une fraction de la population anophélienne (exophage/exophile ou endophage/exophile) est soutenue par la faible variation des taux de parturité des femelles agressives. La situation serait différente si toute la population d'*Anopheles gambiae* s.l. était endophile avec un risque de contact (avec les moustiquaires) et de mortalité plus élevé. La réduction de la transmission du paludisme est importante (88 % à 93 %). Cependant, si la moustiquaire imprégnée protège son utilisateur, plusieurs facteurs défavorables expliquent le maintien de la transmission et le risque d'infection des habitants : certains habitants ont négligé de dormir sous leurs moustiquaires pendant une période plus ou moins longue du fait de la forte réduction de la nuisance culicidienne ; d'autres habitants ont dormi hors du village et n'ont pas été protégés ; de même, des visiteurs (commerçants et étrangers de passage) ont dormi dans le village sans protection ; enfin, une transmission crépusculaire, avant que les habitants ne pénètrent dans les cases et sous les moustiquaires ne peut être exclue

Nos résultats concordent avec ceux obtenus dans d'autres régions de niveaux de transmission élevés, tant avec des moustiquaires qu'avec des rideaux (1, 2). L'évaluation de l'impact des moustiquaires imprégnées d'insecticide sur une seule saison de transmission dans une zone de paludisme stable et de haut niveau d'endémicité, est très aléatoire. Une évaluation sur plusieurs saisons de transmission devrait permettre de préciser l'effet à long terme de l'intervention sur les populations vectorielles, la transmission du paludisme et le risque d'infection de la population. L'intervention a permis de noter l'acceptation des moustiquaires par la population. Cette adhésion massive peut s'expliquer par leur distribution gratuite. En effet, avant l'intervention, seuls 18 % des lits étaient équipés d'une moustiquaire. Le principal obstacle à une utilisation pérenne et massive des moustiquaires (imprégnées ou non) est d'ordre financier. Dans les villages, la plupart des chefs de famille doivent habituellement se doter (ou faire imprégner) plusieurs moustiquaires à une période où les revenus sont à leur plus bas niveau, voire inexistant. Pour les autres, il se pose souvent une question de priorité d'investissement : la moustiquaire est-elle indispensable et son imprégnation l'est-elle également ? Les femelles d'*Anopheles gambiae* s.l., récoltées au cours de l'évaluation, l'ont été dans des cases où l'utilisation des moustiquaires était défectueuse. Toutes les cases où des moustiquaires étaient correctement installées en permanence, étaient exemptes de moustiques. La suppression de la faune résiduelle endophile est associée à une importante réduction de la densité agressive d'*Anopheles gambiae* s.l. Cette réduction est cependant biaisée par notre méthode de mesure de la densité agressive (capture sur homme). En effet, le TAH réel est plus faible que celui estimé par les récoltes sur des captureurs qui, à partir de 21h/22 h, sont les seuls hôtes humains accessibles, les habitants étant sous moustiquaire dans le village d'intervention.

L'expérience de Wassadou montre que l'utilisation de masse des moustiquaires imprégnées affecte fortement le niveau de la transmission du paludisme par la réduction de la densité agressive des vecteurs. Un essai à plus grande échelle de l'utilisation de masse des moustiquaires dans une zone de paludisme instable comme la vallée du fleuve Sénégal pourrait donner des résultats beaucoup plus intéressants en terme de réduction du risque d'infection, du fait de l'efficacité de l'insecticide et de l'entière endophilie des vecteurs. Une surveillance de la sensibilité d'*Anopheles gambiae* s.l. aux pyréthrinoïdes est cependant indispensable. La résistance d'*Anopheles gambiae* s.s. à la perméthrine est signalée à Bouaké en Côte d'Ivoire (14) et au Bénin (4). Les résultats observés avec les moustiquaires pré-imprégnées de perméthrine sont satisfaisants mais les tests effectués avec la dose diagnostique de 0,25 % du produit font penser à l'existence d'individus résistants chez *Anopheles arabiensis* à Dakar.

Cette étude entre dans le cadre d'une Convention de Recherche signée entre le Département de Biologie Animale de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Sénégal) et la firme Sumitomo Chemical Co Ltd (Japon).

Remerciements • Nous remercions O Niang (IRD-Orstom), C. Yade, A. Diop (SLAP), M. Ndao Faye (UCAD) pour leur assistance technique, les habitants de Wassadou et de Badi pour leur aide et leur compréhension. Nous exprimons également nos plus vifs remerciements à S. Diallo et P. Carnevale pour l'appui apporté à cette étude.

REFERENCES

- 1 - CARNEVALE P., ROBERT V., BOUDIN C. et Coll. - La lutte contre le paludisme par des moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes au Burkina Faso. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1988 ; **81** : 832-846
- 2 - PIETRA Y., PROCACCI P. G., SABATINELLI G. et Coll. - Impact de l'utilisation des rideaux imprégnés de perméthrine sur le paludisme dans une zone rurale de haute transmission au Burkina Faso. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1991 ; **84** : 375-385.
- 3 - LINDSAY S.W., SNOW R.W., BROOMFIELD G.L. et Coll. - Impact of permethrin-treated bednets on malaria transmission by the *Anopheles gambiae* complex in The Gambia. *Med. Vet. Entomol.* 1989 ; **3** : 263-271.
- 4 - AKOGBETO P.M., NAHUM A. - Impact des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine sur la transmission du paludisme dans un milieu côtier lagunaire, Bénin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1996 ; **89** : 291-298.
- 5 - BRADLEY A.K., GREENWOOD B.M., GREENWOOD A.M. et Coll. - Bed-nets (mosquito-nets) and morbidity from malaria. *Lancet* 1986 ; **332** : 204-207.
- 6 - SNOW R.W., ROWAN K.M., GREENWOOD B.M. - A trial of permethrin-treated bed nets in the prevention of malaria in Gambian children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1987 ; **81** : 563-567.
- 7 - SNOW R.W., LINDSAY S.W., HAYES R.J., GREENWOOD B.M. - Permethrin-treated bed net (mosquito nets) prevent malaria in Gambian children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1988 ; **82** : 838-842.
- 8 - ALONSO P. L., LINDSAY S.W., ARMSTRONG J.R.M. et Coll. - The effect of insecticide-treated bed nets on mortality of Gambian children. *Lancet* 1991 ; **337** : 1499-1502.
- 9 - FAYE O., KONATE L., FONTENILLE D. et Coll. - Variations saisonnières des populations d'*Anopheles gambiae* s.l. et transmission du paludisme dans un village de savane soudanienne du sud-est du Sénégal. *Bull. IFAN/UCAD*, 1995 ; **48** : 57-66.
- 10 - COLUZZI M., SABATINI A. - Cytogenic observations on species A and B of the *Anopheles gambiae* complex. *Giles Parasitologia* 1967 ; **10** : 179-184.
- 11 - SCOTT J. A., BROGDON W. G., COLLINS F. H. - Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1993 ; **49** : 520-529.
- 12 - FONTENILLE D., FAYE O., KONATE L. et Coll. - Comparaison des techniques PCR et cytogénétique pour la détermination des membres du complexe *Anopheles gambiae* au Sénégal. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1993 ; **68** : 239-240.
- 13 - BEIER J.C., PERKINS P.V., WIRTZ R.A. et Coll. - Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera : Culicidae) in Kenya. *J. Med. Entomol.* 1988 ; **25** : 9-16.
- 14 - ELISSA N., MOUCHET J., RIVIERE F. et Coll. - Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.* 1993, **73** : 291-294.

PARASITOLOGIE

Tests *in vivo* de chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine au Sénégal : évolution de la résistance et estimation de l'efficacité thérapeutique.

C. S. Sokhna, J. F. Molez, P. Ndiaye, B. Sane & J. F. Trape (1) (2)

(1) Laboratoire de paludologie, ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal, Tél : 221 32 09 62, Fax : 221 32 16 75

(2) Manuscrit n°1755 «Parasitologie». Accepté le 19 février 1997.

Correspondance et tirés-à-part : Dr. J.F. Trape, ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal

Summary *In vivo* sensitivity of *Plasmodium falciparum* to chloroquine in Senegal: evolution of resistance and assessment of therapeutic efficacy

The efficacy of oral chloroquine was assessed in 360 out-clinic patients with symptomatic *Plasmodium falciparum* malaria who were enrolled at five sites, in four administrative regions of Senegal, between 1991 and 1995. They were three rural areas: Mlomp (Casamance), Bandafassi-Ibel (Eastern Senegal), Diöhine (Sine-Saloum) and one urban area: Pikine (agglomeration of Dakar). Parasitological failure at Day-7 was observed in 108 patients (30%) and ranged from 14% to 50% according to the study areas. The proportion of RI, RII and RIII responses were 6%, 23% and 1%, respectively. Chloroquine resistance was lowest in Bandafassi, one of the most remote area of Senegal. It was highest in Mlomp where a malaria control programme with mass chemoprophylaxis had been carried out since 1975. The therapeutic failure rate defined by the persistence or reappearance of fever and *P. falciparum* trophozoites on days 4-7 was 6%. The percentages of therapeutic failure for RI, RII and RIII patients were respectively 14%, 19% and 100%. These results and those of previous studies in Senegal suggest that chloroquine resistance, which first emerged *in vivo* in 1988 in Dakar, spread between 1990 and 1993 in all regions of this country. The limitations of *in vivo* tests for the determination of the therapeutic efficacy of chloroquine in malaria endemic regions with increasing chemoresistance are discussed. The low proportion of potentially severe malaria infections in semi-immune persons, the biases in patients selection, and the possibility of delayed complications, considerably limit the potential of these tests for guiding the choice of the best adapted first line treatment.

Key-words: Malaria - *Plasmodium falciparum* - Drug resistance - *In vivo* tests - Chloroquine - Mlomp - Bandafassi-Ibel - Diöhine - Pikine - Senegal

Résumé

Des tests *in vivo* de chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine ont été effectués entre 1991 et 1995 chez des malades consultant dans des dispensaires situés dans quatre régions du Sénégal: Mlomp (Casamance), Bandafassi-Ibel (Sénégal oriental), Diöhine (Sine-Saloum) et Pikine (agglomération de Dakar). Sur un total de 360 tests effectués chez des patients dont l'âge moyen était de 11 ans, 108 (30%) ont mis en évidence une persistance de la parasitémie ou sa réapparition précoce (RI : 6%, RII : 23%, RIII : 1%). Selon les régions, la proportion de cas de résistance variait de 14 % à 50 %. Elle était minimum à Bandafassi, une des régions les plus isolées et les moins médicalisées du Sénégal, et maximum à Mlomp, site d'un important programme de chloroquinisation depuis 1975. Un échec thérapeutique précoce (défini par la persistance ou la réapparition de la fièvre, entre J4 et J7, avec présence de trophozoïtes de *P. falciparum*) a été observé chez 6 % des patients. Ce taux était respectivement de 14 %, 19% et 100% en cas de réponse RI, RII et RIII. Ces résultats et ceux des études antérieures au Sénégal suggèrent que la résistance à la chloroquine, qui a émergé *in vivo* en 1988 dans l'agglomération de Dakar, s'est progressivement étendue entre 1990 et 1993 à l'ensemble des régions du pays. Les limites des tests *in vivo* pour apprécier l'efficacité thérapeutique de la chloroquine en zone d'endémie dans un contexte de chimiorésistance croissante sont discutées. La faible proportion d'infections potentiellement graves chez les sujets semi-immuns, les biais de sélection des malades et la possibilité de complications tardives ont pour conséquence de limiter considérablement l'apport de ces tests pour guider utilement le choix du traitement de première intention le plus adapté.

Mots-clés: Paludisme - *Plasmodium falciparum* - Résistance médicamenteuse - Tests *in vivo* - Chloroquine - Mlomp - Bandafassi-Ibel - Diöhine - Pikine - Sénégal

Introduction

La résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine est apparue en Afrique de l'Ouest dans la deuxième moitié des années 1980 et s'est rapidement étendue à l'ensemble des pays de cette partie de l'Afrique (4). Au Sénégal, les premières

observations de souches de *P. falciparum* à sensibilité réduite *in vitro* à la chloroquine ont été faites en 1984 et 1985 (2, 6). Toutefois, des tests *in vitro* effectués l'année suivante dans les mêmes localités n'ont pas permis de mettre en évidence de nouveaux cas (BRANDICOURT, communication personnelle) et près de 500 souches provenant de diverses régions du Sénégal

étudiées en 1986 et 1987 étaient toutes parfaitement sensibles (28). L'émergence d'une résistance *in vivo* a été mise en évidence pour la première fois au Sénégal en octobre 1988 à Dakar et dans sa banlieue (11, 28). Dans cette agglomération, la prévalence des souches chloroquino-résistantes, qui n'était que de 7% fin 1988, atteignait 47% fin 1990 (12). Les premiers cas de résistance *in vivo* dans d'autres régions du pays ont été mis en évidence en 1990 -notamment à Kaolack, en Casamance et dans la région du fleuve Sénégal, dont un cas de type RIII- mais la plupart des régions rurales semblaient encore indemnes de résistance en 1991 (27 & TRAPE *et al.*, non publié).

Dans cet article, nous présentons des résultats d'enquêtes permettant de décrire l'émergence et l'évolution récente de la résistance à la chloroquine dans quatre régions du Sénégal. Nous présentons également une analyse des dossiers cliniques des 360 patients suivis lors de ces enquêtes, ceci afin d'apporter des éléments de discussion à la question de la place des tests *in vivo* pour apprécier l'efficacité thérapeutique de la chloroquine dans les régions où une forte proportion de souches de *P. falciparum* est résistante à ce médicament

Matériel et méthodes

Zones d'études

Les enquêtes ont été effectuées chez des malades consultant dans des dispensaires ruraux et un dispensaire urbain situés dans quatre régions du Sénégal (Fig. 1). Les sites d'études ont été choisis en raison de l'existence de programmes de recherche sur la morbidité et la mortalité palustres dans ces mêmes régions. Ils sont fortement différenciés en ce qui concerne les conditions éco-épidémiologiques et socio-économiques.

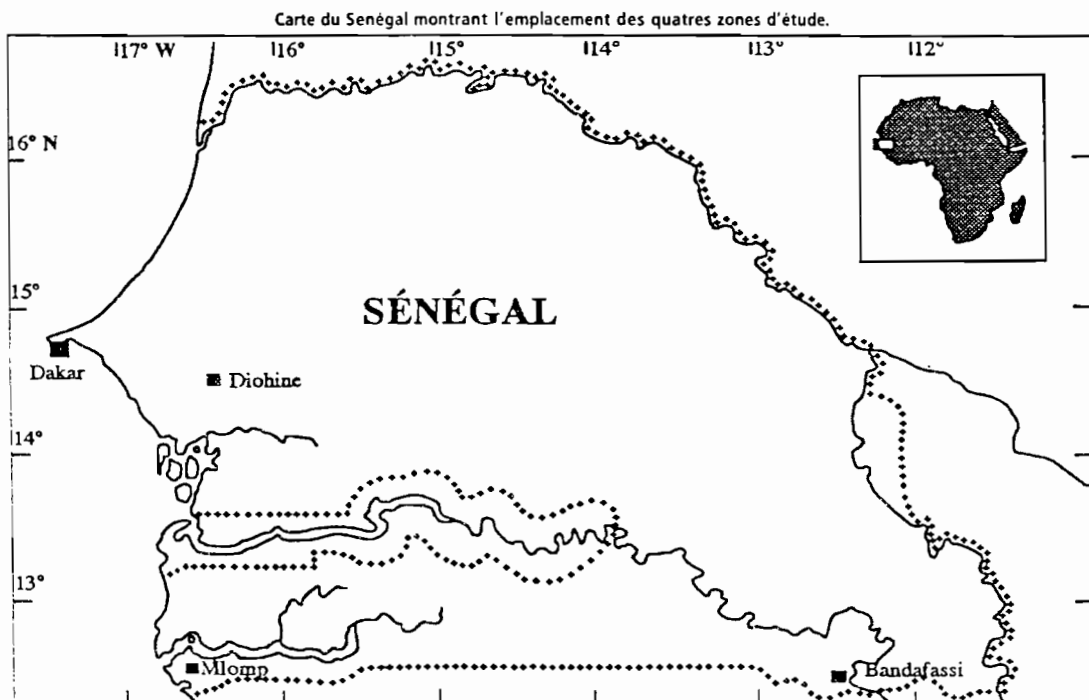
Le village de Mlomp est situé en Basse Casamance (sud-ouest du Sénégal). Le climat est sub-guinéen et la pluviométrie, qui est distribuée de juin à novembre, est en moyenne de 1200 mm par an depuis 1970. La population est presque exclusivement composée d'agriculteurs d'ethnie diola. Mlomp et les dix villages voisins étaient l'objet depuis 1975 d'un important programme de chloroquinisation initié par les sœurs

infirmières de la mission catholique de Mlomp et mis en œuvre pendant près de 20 ans par le Comité de santé des villages concernés (17). Ce programme concernait toutes les classes d'âge de la population (environ 7 000 personnes) et consistait en la prise hebdomadaire de chloroquine de juin à novembre chaque année. A la fin de la saison de transmission des années 1988 et 1989, deux études randomisées à partir du recensement général de la population indiquaient que seulement 5% des enfants et 12% des adultes résidant dans les onze villages concernés par ce programme avaient une goutte épaisse positive (17). Les premières souches chloroquino-résistantes sont apparues à Mlomp fin 1990 (20). En novembre 1992, une nouvelle enquête randomisée indiquait que la prévalence du paludisme était désormais de 46% chez les enfants et de 38% chez les adultes (20). Ces résultats, joints à ceux des tests de chimiosensibilité présentés dans cet article, ont conduit en 1994 le Comité de santé à décider l'abandon de la chimioprophylaxie pour toutes les classes d'âge de la population, à l'exception des enfants de moins de 4 ans et des femmes enceintes.

Les villages de Bandafassi et d'Ibel, distants de 10 km, sont situés à l'extrême sud-est du Sénégal, à 700 km de Dakar, dans le département de Kédougou. Le climat et la végétation sont de type soudanien et la pluviométrie moyenne annuelle est de 1100 mm (période 1970-1992). C'est une des régions les plus isolées du Sénégal, au mode de vie traditionnel. La mortalité des enfants de moins de cinq ans, qui atteignait encore 410 pour mille en 1985 (16), reste toujours une des plus élevées du Sénégal, bien qu'elle ait diminué de plus de 30% ces dernières années sous l'effet de campagnes de vaccination (5) et de la formation d'agents de santé communautaire. Les résultats des enquêtes paludométriques anciennes (14) et récentes indiquent toutes l'existence d'un paludisme holoendémique. En février 1995 (milieu de saison sèche), l'examen des gouttes épaisses d'un échantillon randomisé de 368 habitants de la zone d'étude indiquait un indice plasmodique de 83% chez les enfants et de 31% chez les adultes (TRAPE, non publié).

Le village de Diohine est situé à environ 150 km au sud-est de Dakar, dans la zone d'étude de Niakhar où un observatoire permanent de population a été installé en 1962 et où des études

Figure



d'efficacité de nouveaux vaccins (rougeole, coqueluche) sont effectuées depuis 1987 (20). Dans cette zone entièrement défrichée depuis le début du siècle pour la culture de l'arachide, le climat est sahélo-soudanien et la pluviométrie moyenne annuelle depuis 1970 est inférieure à 500 mm. La transmission du paludisme est limitée à une période de trois mois (août à octobre). L'indice plasmodique chez les enfants est généralement inférieur à 30% en fin de saison sèche mais dépasse 80% en fin de saison de transmission du paludisme (MOLEZ & TRAPE, non publié).

L'agglomération de Pikine, banlieue de Dakar, est située dans la presqu'île du Cap-Vert. La pluviométrie moyenne annuelle depuis 1970 est d'environ 400 mm. La transmission du paludisme débute en août et se prolonge jusqu'en décembre en raison de l'existence de vastes dépressions marécageuses à proximité de l'agglomération. Son niveau est toujours très faible (maximum une piqûre infectante par personne par an en bordure immédiate des marais) et l'indice plasmodique varie de 2% à 7% selon les saisons et les quartiers de la ville (26). Du fait de l'absence d'immunité protectrice, chaque nouvelle infection occasionne un accès palustre chez les enfants et la majorité des adultes de Pikine (25, 29).

Tests de chimiosensibilité *in vivo*

Tous les tests dont les résultats sont rapportés dans ce travail ont été effectués selon des modalités similaires chez des malades consultant en dispensaire. Sur une période d'environ une semaine qui était choisie en période de transmission maximum du paludisme, tous les malades consultant pour un syndrome fébrile d'apparition récente et évocateur de paludisme étaient prélevés pour une goutte épaisse. Celle-ci était colorée au Giemsa rapide sans déshémoglobination préalable et examinée moins d'une heure après le prélèvement initial. Les critères d'inclusion pour un test *in vivo* étaient les suivants : donner son consentement au test, être âgé d'au moins un an, présenter une parasitémie à *P. falciparum* d'au moins 5 000 trophozoïtes par µl de sang, ne pas présenter une association d'espèces plasmodiales, ne pas présenter de signes de gravité, ne pas avoir pris d'antipaludique les jours précédents. La chloroquine (Nivaquine® en comprimés de 100 mg) a été administrée par voie orale à la dose totale de 25 mg/kg répartie sur 3 jours (10 mg le 1er et le 2ème jour, 5 mg le 3ème jour). Les trois prises ont été effectuées en notre présence et le patient gardé en surveillance pendant 30 minutes après la première prise pour détecter tout vomissement précoce. Les malades étaient revus tous les jours de J1 à J7 (à partir de 1994, les visites systématiques à J3, J5 et J6 ont été supprimées chez les patients dont l'évolution clinique était rapidement favorable) et l'évolution de la maladie était notée sur un questionnaire standardisé. Sauf cas particulier, cette surveillance était effectuée à domicile, ceci afin de limiter le taux de perdus de vue (de 0% à 3% des effectifs selon les enquêtes). Une goutte épaisse de contrôle était systématiquement effectuée à J2, J4 et J7. Dans le cas des enquêtes de Pikine et Niakhar, une goutte épaisse supplémentaire a été effectuée à J14.

En cas d'échec thérapeutique, les critères de prescription d'un nouvel antipaludique étaient les suivants : apparition de signes de gravité (aucun cas observé), absence d'amélioration clinique nette à J3 (aucun cas observé), persistance ou réapparition de la fièvre après J3. Par ailleurs, quel que soit leur état clinique, tous les sujets dont la goutte épaisse était positive en fin de test étaient systématiquement traités par la sulfadoxine-pyriméthamine.

Nous avons exclu de l'analyse les malades pour lesquels des vomissements répétés avaient conduit à un changement de thérapeutique avant la fin du traitement complet par chloroquine (de 0% à 8% des effectifs selon les enquêtes). L'ensemble des gouttes épaisses a été relu en fin d'étude par le même technicien expérimenté ; 200 champs microscopiques (équivalent de 0,5 µl de sang) ont été systématiquement examinés pour chaque goutte épaisse. Dans l'exposé des résultats, les critères suivants de classification des réponses au traitement ont été utilisés : S = pas de trophozoïte décelable à J7 (sensible ou RI tardif) ; RI = pas de trophozoïte décelable à J2 ou J4 mais réapparition à J7 (RI précoce) ; RII = trophozoïtes présents à J2, J4 et J7, parasitémie à J2 ou J4 inférieure à 25% de la parasitémie initiale ; RIII = trophozoïtes présents à J2 et J4, parasitémies à J2 et J4 supérieures à 25% de la parasitémie initiale. Nous avons classé comme échec thérapeutique les cas pour lesquels la persistance ou la réapparition après J3 d'une température supérieure ou égale à 38°C était associée à la persistance ou à la réapparition de trophozoïtes de *P. falciparum*, quelle que soit leur densité.

Résultats

Mlomp

Les résultats des séries de tests effectuées chaque année de 1991 à 1994 (en octobre les deux premières années et en août les deux années suivantes) sont indiqués sur le tableau I.

Au total, 140 patients ont été inclus, dont deux ont été perdus de vue avant J7 et un a été exclu en raison de vomissements répétés qui ont conduit à un changement de traitement dès J0. L'âge des 137 patients étudiés variait de 1 à 59 ans (moyenne : 11,1 ans, enfants de moins de 5 ans : 23%). Une résistance à la chloroquine a été mise en évidence chez 68 patients (49,6%). La proportion des tests indiquant une réponse de type RI (11,6%), RII (36,5%) et RIII (1,5%) n'a pas montré d'évolution nette de 1991 à 1994. Toutefois, les deux seuls cas de résistance RIII ont été observés lors des deux dernières séries.

Tableau I.

Répartition des réponses des stades asexués de *P. falciparum* lors de quatre séries de tests standards *in vivo* de 7 jours de chimiosensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine. Mlomp (Sénégal), 1991-1994.

année	1991	1992	1993	1994	total	%
S	16	19	19	15	69	50,4
RI	5	7	0	4	16	11,6
RII	12	11	12	15	50	36,5
RIII	0	0	1	1	2	1,5
total	33	37	32	35	137	100

Chez 34 patients (25%), la parasitémie à J2 était supérieure à 25% de la parasitémie initiale. L'évolution ultérieure a montré qu'il s'agissait d'infections de type RIII dans deux cas seulement. Les autres réponses étaient de type RII (20 cas), RI (4 cas) ou S (8 cas).

A J2, 22 patients (5 S, 1 RI, 14 RII, 2 RIII) avaient encore une température $\geq 38^\circ\text{C}$, dont 11 des malades précédents. A l'exception de 5 patients (soit 4% de l'effectif initial), tous étaient apyrétiques le lendemain. Malgré la persistance de la fièvre, ces cinq patients présentaient à J3 une nette amélioration clinique. L'un d'entre eux a guéri cliniquement et parasitologiquement à J4 et était toujours négatif à J7. La poursuite ou la réapparition de la fièvre après J3 chez les quatre autres malades (2 RII et 2 RIII) a conduit à administrer un nouveau traitement.

Sur une période de surveillance de 7 jours, 15 échecs thérapeutiques ont été observés (11%). Outre les quatre cas de fièvre persistante mentionnés précédemment, il s'agissait de 11 malades dont la fièvre est réapparue entre J4 et J7 (3 RI et 8 RII). Par ailleurs, quatre malades qui ont définitivement guéri cliniquement et parasitologiquement à J4 ont présenté une recrudescence thermique (38,0°-38,2°C) à J3.

Bandafassi-Ibel

Deux séries de tests ont été effectuées : en novembre 1994 à Bandafassi et en novembre 1995 à Ibel. Au total, 75 patients ont été inclus, dont trois ont été perdus de vue avant J7 et un a été exclu à J1 en raison de vomissements répétés. L'âge des 71 patients étudiés variait de 1 à 54 ans (moyenne : 8,9 ans ; enfants de moins de 5 ans : 44%). Sur 34 tests de 7 jours effectués lors de la première série, 4 (12%) indiquaient une résistance. Il s'agissait de deux cas de type RI et de deux cas de type RII. Lors de la deuxième série l'année suivante, 6 tests sur 37 (16%) indiquaient une résistance. Il s'agissait de 6 cas de type RII.

Deux patients avaient à J2 une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale (S : 1 cas, RII : 1 cas) tout en étant apyrétiques. Un seul des 71 patients n'était toujours pas apyrétique à J2. Ce malade a définitivement guéri cliniquement et parasitologiquement dès J3. Un seul patient a présenté une réapparition de la fièvre entre J3 et J7. Il s'agit d'un malade RII dont les symptômes (fièvre à 38°C et asthénie) sont réapparus à J7.

Diohine

Trois séries de tests ont été effectuées en octobre-novembre 1993, 1994 et 1995. Au total, 107 patients ont été inclus, dont trois ont été perdus de vue avant J7 et deux ont été exclus en raison de vomissements répétés qui ont conduit à un changement de traitement à J0 et J2. L'âge des 102 patients étudiés variait de 1 à 56 ans (moyenne : 8,7 ans ; enfants de moins de 5 ans : 56%). Sur 39 tests de 7 jours réalisés en 1993, 4 (10%) indiquaient une résistance. Il s'agissait de 3 cas de type RII et d'un cas de type RIII. Lors de la deuxième série de tests effectuée en 1994, 27 patients ont eu un test de 7 jours et ont de nouveau été prélevés à J14. A J7, 4 patients (15%) présentaient une réponse indiquant une résistance à la chloroquine (de type RII dans les quatre cas). A J14, 4 nouveaux patients présentaient des trophozoïtes de *P. falciparum*, soit un total de 30% de réponses évoquant une résistance. En 1995, 36 patients ont eu un test de 7 jours et ont de nouveau été prélevés entre J17 et J20. A J7, 6 patients (17%) présentaient une réponse indiquant une résistance (de type RII dans 5 cas et de type RIII dans un cas). A J17 (8 cas) ou J20 (1 cas), 9 nouveaux patients présentaient des trophozoïtes de *P. falciparum* (dont 6 à une densité supérieure à 10 000 trophozoïtes par µl de sang), soit un total de 42% de réponses évoquant une résistance.

Trois patients avaient à J2 une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale. L'évolution ultérieure a montré qu'il s'agissait de réponses RIII dans deux cas et RII dans un cas. A J2, 6 patients étaient encore fébriles, dont un seul des malades précédents. Il s'agissait de réponses RIII (1 cas), RII (1 cas) et S (4 cas). A J4, ces quatre derniers patients étaient guéris cliniquement et parasitologiquement et les deux autres étaient toujours fébriles.

Sur une période de 7 jours, 4 échecs thérapeutiques ont été observés (5%). Outre les deux cas mentionnés précédem-

ment, il s'agissait de 2 malades dont la fièvre est réapparue entre J4 et J7 (1 RII et 1 RIII).

Pikine

Une série de tests a été effectuée en octobre 1994. Au total, 60 patients ont été inclus dans l'étude, dont cinq ont été perdus de vue avant J7 et cinq ont été exclus avant J2 en raison de vomissements répétés qui ont conduit à un changement de traitement. 50 patients ont eu un test complet de 7 jours et 47 d'entre-eux ont de nouveau été contrôlés à J14. Leur âge variait de 1 à 70 ans (moyenne : 19,2 ans ; enfants de moins de 5 ans : 10%). A J7, 16 patients (32%) présentaient une réponse indiquant une résistance à la chloroquine (RI dans 3 cas et RII dans 13 cas). A J14, 5 nouveaux patients présentaient des trophozoïtes de *P. falciparum*, soit un total de 45% de réponses évoquant une résistance.

Neuf patients présentaient à J2 une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale (S : 1 cas, RI : 2 cas, RII : 6 cas). A J2, 4 patients (8%) étaient encore fébriles, dont trois des malades précédents. Ces quatre patients étaient apyrétiques à J3, mais l'évolution ultérieure a montré qu'il s'agissait de réponses RI (1 cas) ou RII (3 cas), dont deux associées à une rechute clinique (à J4 pour un malade RII et à J14 pour le malade RI). Au total, le taux d'échec thérapeutique était de 6% à J7 (3 malades RII) et de 15% à J14 (4 nouveaux malades, dont 2 RI et 2 RII).

Discussion

Evolution de la résistance à la chloroquine au Sénégal

Peu d'études ont été publiées sur la chimiosensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine au Sénégal. Toutefois, des données assez nombreuses ont été collectées ces dix dernières années, soit localement à l'occasion d'enquêtes systématiques de terrain ou d'analyse de dossiers de malades ayant présenté un échec thérapeutique, soit chez des voyageurs dont l'infection contractée au Sénégal a été diagnostiquée lors du retour dans le pays d'origine. Ces données et celles présentées dans cet article permettent de retracer les grandes lignes de l'évolution de la résistance à la chloroquine au Sénégal.

Il est établi que de très rares souches résistantes *in vitro* circulaient déjà au Sénégal dès 1984 (2). Toutefois, la chronologie de l'émergence de la résistance *in vivo* en Afrique (4), sa survenue seulement en 1988 au Sénégal, et son caractère immédiatement explosif dans les zones à forte pression médicamenteuse de ce pays, indiquent clairement que son émergence au Sénégal s'est bien inscrite dans la phase ultime du processus général de progression géographique Est-Ouest de ce phénomène en Afrique.

A Pikine, où la transmission est très faible, la plupart des infections sont symptomatiques et entraînent ainsi l'administration de chloroquine. Ceci explique que la progression de la résistance a été très rapide initialement, de 7% de souches résistantes fin 1988 à 47% fin 1990 (12, 28). En 1992, une diminution a été observée, avec seulement 24% de cas de résistance (10) ; cette diminution était peut-être seulement apparente (l'effectif total était de 25 malades testés), mais elle a aussi été associée à des conditions climatiques défavorables à la reprise rapide de la transmission pendant la saison des pluies, ce qui a probablement aug-

ment la part des porteurs de gamécytes infectés en zone rurale dans la reprise de la transmission. Les données de 1994 indiquent un taux proche de celui de 1990, mais elles montrent aussi une progression constante depuis 1988 de la proportion relative des souches RII par rapport aux souches RI. Ceci est probablement la conséquence de la pression thérapeutique qui entraîne une plus forte production de gamécytes par les malades présentant des infections RII que par ceux présentant des infections RI (18). Il est à noter que toutes les études *in vivo* réalisées depuis 1988 à Pikine ont été effectuées selon le même protocole dans le même dispensaire.

Dans le cas de Mlomp, malgré plus de quinze années de chloroquinisation massive, cette drogue était encore parfaitement efficace en 1989, ainsi que l'attestent le maintien jusqu'à cette date d'un indice plasmodique très faible et l'évolution ultérieure de l'endémie palustre et de la consommation d'antipaludiques (tableau II).

Tableau II

Evolution de la prévalence du paludisme chez les enfants, de la proportion de souches chloroquino-résistantes, du nombre de consultations pour paludisme présumé et des achats de quinine et de chloroquine par le dispensaire*, Mlomp (Sénégal), 1988-1995.

année	prévalence*	résistance- <i>in vivo</i>	quinine (amp. 400mg)	chloroquine (c.100mg)	malades paludisme**
1988	4 %	-	600	45 000	4 388
1989	6 %	-	700	55 000	3 661
1990		10 %#	900	90 000	4 958
1991		51 %	2 300	85 000	4 061
1992	46 %	49 %	6 300	125 000	4 451
1993		41 %	3 000	107 000	4 953
1994	51%	57 %	4 000	96 000	6 095
1995			6 900	108 000	4 650

* traitement des patients consultant au dispensaire et achat de chloroquine par les villageois
 * enfants de 0-14 ans (enquête par sondage au 1/3 à partir du recensement de la population des onze villages, examen de 200 champs microscopiques à l'immersion de la goutte épaissée)

** malades consultant au dispensaire de Mlomp qui ont été considérés comme des cas de paludisme sur des arguments cliniques (nouveaux cas seulement, les malades revenant en consultation pour le même épisode pathologique n'étant pas décomptés).

pas d'enquête systématique, estimation à partir de trois cas documentés.

La fréquence élevée à partir de 1990-1991 des échecs thérapeutiques avec la chloroquine a entraîné une très forte augmentation de l'administration de quinine par le dispensaire de Mlomp, mais aussi un doublement de la consommation de chloroquine, sans qu'il y ait de modification appréciable de l'incidence des nouveaux cas présumés de paludisme. Dans cette population qui était faiblement immune avant l'émergence de la résistance à la chloroquine, la majorité des infections palustres étaient associées à la survenue d'un épisode clinique, ce qui explique que près du tiers des causes de consultation pour syndrome fébrile étaient déjà dues au paludisme avant l'émergence de la chloroquino-résistance (17). Selon les infirmières du dispensaire, le principal changement expliquant l'augmentation de la consommation d'antipaludiques a été une forte augmentation du nombre de malades revenant consulter pour le même épisode pathologique. Ceci est en accord avec nos observations montrant que la persistance de la fièvre à J2 est significativement associée aux infections RII et RIII et qu'un échec thérapeutique précoce est observé une fois sur cinq en cas d'infection RII (tableau III). La stabilisation *in vivo* de la résistance à un niveau proche de 50% est un phénomène fréquemment observé en Afrique tropicale. Elle pourrait être avant tout liée à l'immunité protectrice partielle des sujets inclus dans les tests et ne pas refléter l'évolution de la sensibilité *in vitro* qui continuerait à diminuer.

Tableau III

Tests de chimiosensibilité à la chloroquine au Sénégal : récapitulatif, en fonction de la réponse *in vivo*, des cas de persistance à J2 d'une parasitémie supérieure à 25% de la parasitémie initiale, des cas de persistance à J2 de la fièvre et des cas d'échec thérapeutique.

réponse <i>in vivo</i>	S	RI	RII	RIII	total
effectif	252	21	83	4	360
parasitémie J2/J0 > 0,25	10 (4,0%)	6 (29%)	28 (34%)	4 (100%)	48 (13,3%)
fièvre à J2*	11 (4,4%)	1 (5%)	18 (22%)	3 (75,0%)	33 (9,2%)
échec thérapeutique**	0 (0,0%)	3 (14%)	16 (19%)	4 (100%)	23 (6,4%)

* Température rectale $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ou température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$

** Persistance à J4 ou réapparition entre J4 et J7 d'une température rectale $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ou d'une température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$

Dans le cas des régions de Dioline et Bandafassi-Ibel, les premiers échecs thérapeutiques avec la chloroquine ont été remarqués par les personnels de ces dispensaires respectivement en 1992 et 1993, ce qui nous a conduits à débiter des tests systématiques dès l'année suivante afin de suivre l'évolution de la chimiorésistance. Sa progression dans sa phase initiale apparaît beaucoup moins rapide qu'à Dakar-Pikine et à Mlomp, certainement en raison d'une pression de sélection plus faible dans ces régions où la médecine traditionnelle conserve une place importante, y compris pour le traitement des épisodes fébriles aigus. Il est à noter que des infections RII ou RIII ont été mises en évidence dès la première enquête dans ces deux régions. Par ailleurs, la fréquence élevée à Dioline des repositivations survenant moins de 20 jours après le début du traitement par la chloroquine semble difficilement attribuable à des réinfections. Dans notre expérience au Congo et au Sénégal avant l'émergence de chloroquinorésistance, une repositivation avant la fin de la troisième semaine était rare, la plupart des repositivations ne survenant qu'après 24 ou 30 jours (J.F. TRAPE, non publié).

Nos observations suggèrent que la totalité des régions du Sénégal sont désormais concernées par l'extension de la chimiorésistance. La mobilité de la population est partout importante et son ampleur est parfois considérable. Ainsi, dans le cas de Mlomp, près de 50% des adultes de 15 à 60 ans sont des migrants saisonniers, revenant au village en période de culture ou de récolte, et repartant ensuite soit vers les villes (principalement les femmes, pour le petit commerce ou un placement comme bonne), soit vers d'autres zones rurales dans l'ensemble du Sénégal (spécialisation des hommes dans la récolte du vin de palme) (8). Même lorsqu'ils sont moins fréquents et en l'absence de forte pression médicamenteuse, ces mouvements de population tendent à uniformiser le niveau de chimiorésistance. Ainsi, dans le village de Dielmo (Sine-Saloum), seule la quinine orale ou injectable a été utilisée de 1990 à 1995 pour le traitement des cas de paludisme et l'absence complète d'utilisation de chloroquine a été confirmée par des tests systématiques de dépistage des antipaludiques dans les urines (19, 30). Alors qu'en 1990 *P. falciparum* était parfaitement sensible à la chloroquine à Dielmo, le niveau de chloroquino-résistance dépasse 40% en 1995 et est similaire à celui des autres villages de la région (23).

La fréquence des réponses de type RIII est encore faible au Sénégal, inférieure à 2%. Toutefois, il est à noter que si nous avons utilisé comme critère d'une réponse RIII l'ancienne définition de l'OMS (parasitémie à J2 supérieure à 25% de la parasitémie de J0), 13% des malades auraient été classés comme ayant une réponse RIII. Le tableau III montre que les réponses

S, RI et RII représentent ensemble près de 92% des cas de forte parasitémie à J2. La nécessité d'utiliser un autre critère a déjà été soulignée, notamment en Thaïlande pour les tests *in vivo* à la méfloquine (24). Il est désormais proposé d'utiliser comme critère le niveau de la parasitémie à J3, en conservant le même taux de réduction par rapport à J0 (15).

Chimiorésistances et efficacité thérapeutique

Jusqu'à présent, la progression de la chloroquino-résistance n'a eu que peu de conséquences sur la politique de santé des pays africains et sur la place de la chloroquine dans le traitement du paludisme. Bien qu'une proportion élevée de personnes traitées par la chloroquine n'éliminent pas leur parasitémie, on observe habituellement une disparition rapide de la fièvre et des autres symptômes, ainsi que le confirment les résultats de cette étude. Cette apparente innocuité relative de la plupart des souches résistantes explique qu'il est généralement admis que l'utilisation de la chloroquine comme médicament de première intention reste justifiée, même si une forte proportion de malades traités demeurent parasitémiques (1, 3, 13). Par ailleurs, les alternatives possibles à la chloroquine sont peu nombreuses et incertaines. Tous les autres médicaments sont soit beaucoup plus coûteux (9) -et pour cette raison inabordable pour la majorité des populations africaines-, soit eux aussi déjà plus ou moins concernés par le phénomène de chimiorésistance (6). A l'exception du Malawi, qui a officiellement remplacé la chloroquine par la sulfadoxine-pyriméthamine comme traitement de première ligne du paludisme (1), la chloroquine est restée le principal médicament antipaludique utilisé par tous les pays d'Afrique.

Les résultats de séries de tests *in vivo* montrant une disparition de la fièvre chez la plupart des malades présentant une réponse de type RI ou RII, voire même parfois RIII, permettent-ils d'affirmer que la chloroquine conserve une bonne efficacité thérapeutique ? Nous pensons que non, pour trois raisons. La première est la rareté des études sur la gravité potentielle après J7 des infections par des souches résistantes. Une complication aussi fréquente que l'anémie n'est reconnue que depuis quelques années seulement (1). Aucune étude n'a cherché à préciser la fréquence des formes graves du paludisme associées à ces infections persistantes. Une deuxième raison est d'ordre méthodologique. Les malades qui présentent des vomissements répétés dont le début se situe plusieurs heures après la première prise de chloroquine sont toujours exclus des tests, soit dès l'inclusion (quand la première prise a été administrée hors protocole, généralement à domicile), soit à J1 ou J2 (quand la deuxième ou la troisième prises ne peuvent être administrées ou qu'un changement de thérapeutique -en général injection de quinine- est déjà intervenu à l'initiative du malade). Pourtant, c'est pour ces patients chez qui la première dose de chloroquine n'empêche pas une exacerbation des symptômes que le risque d'apparition d'un paludisme grave associé à une infection par une souche résistante est le plus grand (TRAPE *et al.*, en préparation). De ce fait, il existe un biais de recrutement qui tend à faire juger l'efficacité thérapeutique d'un médicament sur les seuls malades exposés aux formes les plus frustrées de la maladie. Enfin, une troisième raison est d'ordre conceptuel : les tests *in vivo*, qui ont été

établis pour apprécier l'évolution de la parasitémie sous un schéma thérapeutique donné, ne sont pas adaptés à une comparaison du risque de survenue de complications graves du paludisme en zone d'endémie. Dans les populations semi-immunes, y compris chez les jeunes enfants qui sont seuls exposés aux formes graves de la maladie, seule une faible proportion des accès palustres est susceptible d'être à l'origine de complications graves et la plupart des accès palustres, même non traités, guérissent rapidement. Aussi, observer que la plupart des malades présentant une infection persistante ne présentent plus de symptômes après quelques jours d'évolution ne permet pas de conclure quant à la part relative d'efficacité thérapeutique conservée par la chloroquine.

Pour ces trois raisons, nous pensons que seule une approche basée sur l'étude de la survie à moyen terme de cohortes de jeunes enfants traités pour un accès palustre permettrait de comparer l'efficacité de différents schémas thérapeutiques. La létalité d'un accès palustre non traité chez un enfant africain étant estimée à environ 2% seulement (22, 29), l'effectif de malades qu'il est nécessaire d'inclure dans une étude comparant deux schémas thérapeutiques de première intention (avec un même traitement de deuxième intention en cas d'échec thérapeutique) est très important. Il devrait sans doute être supérieur à un millier d'enfants pour permettre la mise en évidence d'une diminution significative du risque de décès sous l'effet d'un traitement de première intention mieux adapté que la chloroquine à la chimiosensibilité actuelle des infections palustres au Sénégal.

Conclusion

Situé à l'extrémité ouest de l'Afrique, le Sénégal a été le dernier pays africain touché par la diffusion de la résistance à la chloroquine. Cette diffusion intéresse désormais l'ensemble du pays. Au niveau local, le principal facteur qui détermine la vitesse de la progression et du renforcement de la résistance semble être la pression médicamenteuse et non l'intensité de la transmission. Bien qu'ils soient indispensables pour préciser l'ampleur et l'évolution de la résistance, les tests *in vivo* ou *in vitro* de chimiosensibilité ne permettent pas d'appréhender la question majeure que soulève ce phénomène : celle de son impact sur la mortalité palustre. L'évaluation à large échelle de nouveaux schémas thérapeutiques de première intention dans le cadre de programmes de recherches comportant une surveillance démographique des populations concernées et l'étude rétrospective des circonstances et causes de décès nous semble la seule approche possible pour recueillir les données nécessaires à l'adaptation de la lutte antipaludique à la dégradation continue de la chimiosensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine.

Remerciements

Ce travail a reçu le soutien financier du Ministère français de la coopération. La réalisation des tests n'aurait pas été possible sans la collaboration étroite des personnels de santé des dispensaires de Mlomp, Diohine, Pikine, Bandafassi et Ibel que nous remercions vivement. Nous adressons également nos vifs remerciements à M. le Professeur S. DIALLO pour son appui constant, à MM. H. BOUGANALI, G. NDIAYE, R. BIAGUI, A. BADJI, T. DIOP et H. BASSENE pour leur aide technique, et à MM. G. PISON, F. SIMONDON, O. GAYE, C. ROGIER, V. ROBERT et à Mme C. ENEL pour leurs conseils.

Références bibliographiques

- BLOLAND P B, LACKRITZ E M, KAZEMBE P N, WERE J B O, STEKETEE R & CAMPBELL C C - Beyond chloroquine: implications of drug resistance for evaluating malaria therapy efficacy and treatment policy in Africa. *J. Inf. Dis.*, 1993, **167**, 932-937
- BRANDICOURT O, DRUILHE P, DIOUF F, BRASSEUR P, TURK P & DANIS M - Decreased sensitivity to chloroquine and quinine of some *Plasmodium falciparum* strains from Senegal in September 1984. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1986, **35**, 717-721
- BRANDLING-BENNETT A D, OLOO A J, WATKINS W M, BORGIA D A, KARIUKI D M & COLLINS W E - Chloroquine treatment of *falciparum* malaria in an area of Kenya of intermediate chloroquine resistance. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1988, **82**, 833-837
- CHARMOT G, AMAT-ROZE J M, RODHAIN F, LEBRAS J & COULAUD J P - Abord géographique de l'épidémiologie de la chloroquinorésistance de *Plasmodium falciparum* en Afrique Tropicale. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1991, **71**, 187-197
- DESGREES DU LOU A & PISON G - Barriers to universal child immunization in rural Senegal 5 years after the accelerated expanded programme on immunization. *Bull. Org. mond. santé*, 1994, **72**, 751-759.
- DRUILHE P & BRASSEUR P - Poly-chimiorésistances du paludisme : en un combat douteux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1994, **5**, 292-306.
- DRUILHE P, BRASSEUR P, BRANDICOURT O, KOUAMOOU J, RICHARD-LENOBLE D, DIOUF F et al. - *Plasmodium falciparum* drug resistance in West Africa. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1986, **66**, 297-300.
- ENEL C, PISON G & LEFEBVRE M - Migrations and marriage changes. A case study of Mlomp, a Joola village in the southern part of Senegal. In: Bledsoe C & Pison G, eds. *Nuptiality in sub-Saharan Africa: current changes and their potential impacts on fertility*. New York: Oxford University Press, 1994, pp 92-113.
- FOSTER S D - Pricing, distribution and use of antimalarial drugs. *Bull. OMS.*, 1991, **69**, 349-363.
- GAYE O, BABOU I, FAYE O, FALL A, MOLEZ J F et al. - Morbidité palustre et efficacité thérapeutique des antipaludéens. Etude menée dans la région de Dakar. *Méd. Trop.*, 1993, **53**, 479-485.
- GAYE O, BAH I B, DIALLO S, VICTORIUS A, BENGUA E & FAYE O - Emergence du paludisme chloroquinorésistant à Dakar (Sénégal). *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1990, **70**, 33-37.
- GAYE O, FAYE O, BAH I B, DIALLO S, DIOUF M et al. - Evolution de la chloroquinorésistance en zone urbaine. Résultats d'enquêtes menées à Dakar et Pikine. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1991, **71**, 329-330.
- HOFFMAN S L, MASBAR S, HUSSEIN P R, SOEWARTA A, HARUN S et al. - Absence of malaria mortality in villagers with chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* treated with chloroquine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1984, **78**, 175-178.
- LARIVIERE M, HOCQUET P & ABONNENC E - Résultats d'une enquête palustre dans la république du Sénégal. Indices plasmodiques chez les enfants en milieu rural. *Bull. Soc. Méd. Afr. Noire Lgue frse*, 1961, **6**, 386-402.
- O.M.S - Antimalarial drug policies ; data requirements, treatment of uncomplicated malaria, and prophylaxis in pregnancy. Report of a WHO Informal consultation 14-18 March 1994. WHO/MAL/94.1070.
- PISON G & LANGANEY A - The level and age pattern of mortality in Bandafassi (Eastern Senegal): results from a small-scale and intensive multi-round survey. *Pop. Studies*, 1985, **39**, 387-405
- PISON G, TRAPE J. F, LEFEBVRE M & ENEL C. - Rapid decline in child mortality in a rural area of Senegal. *Int. J. Epidem.*, 1993, **22**, 72-80
- ROBERT V, MOLEZ J. F & TRAPE J F - Gametocytes, chloroquine pressure and the relative parasite survival advantage of resistant strains of *falciparum* malaria in West Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996, **55**, 350-351.
- ROGIER C, BRAU R, TALL A, CISSE B & TRAPE J F - Reducing the oral quinine-quinidine-cinchonine (Quinimax®) treatment of uncomplicated malaria to 3 days does not increase the recurrence of attacks among children living in a highly endemic area of Senegal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1996, **90**, 175-178.
- SANE B - Etude de l'impact de la chloroquinorésistance sur l'épidémiologie du paludisme à Mlomp (Casamance), Sénégal. Mémoire de DEA de biologie animale, Université de Dakar, 1994, 64 pp.
- SIMONDON F, PREZIOSI M P & MARRA A - The Niakhar study area (Senegal). In: L. Hviid & P.H. Jakobsen, *Proceedings of the First African malaria vaccine testing network meeting*, Arusha 22-24 February 1995, pp 81-83.
- SUDRE P, BREMAN J G & KOPLAN J P - Delphi survey of malaria mortality and drug resistance in Africa. *Lancet*, 1990, **335**, 722.
- TALL A, ROGIER C, GNING M, NDIAYE F, DIANE SARR F, LY A B, et al. - Prévalence élevée de résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine en l'absence de pression de sélection. *Bull. Epiter*, 1996, **9**, 14-16.
- TER KUILE F O - Mefloquine, halofantrine and artesunate in the treatment of uncomplicated *falciparum* malaria in a multi-drug resistant area. *Academisch proefschrift*, Universiteit van Amsterdam, 1994, 212 pp.
- TRAPE J F, LEFEBVRE-ZANTE E, LEGROS F, DRUILHE P, ROGIER C et al. - Malaria morbidity among children exposed to low seasonal transmission in Dakar, Senegal and its implication for malaria control in Tropical Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1993, **48**, 748-756.
- TRAPE J F, LEFEBVRE-ZANTE E, LEGROS F, NDIAYE G, BOUGANALI H et al. - Vector density gradients and the epidemiology of urban malaria in Senegal. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **47**, 181-189.
- TRAPE J F, LEGROS F, KONATE L, VERDIER F & VASSAL J - A propos d'un cas de paludisme résistant à la chloroquine au Sénégal. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1990, **83**, 669-670.
- TRAPE J F, LEGROS F, NDIAYE P, KONATE L, BAH I B et al. - Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83**, 761.
- TRAPE J F & ROGIER C - Combatting malaria morbidity and mortality by reducing transmission. *Parasitology Today*, 1996, **12**, 236-240.
- TRAPE J F, ROGIER C, KONATE L, DIAGNE N, BOUGANALI H, CANQUE B et al. - 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.*, 1994, **51**, 123-137.

MORBIDITE PALUSTRE ET EFFICACITE THERAPEUTIQUE DES ANTIPALUDEENS. ETUDE MENEES DANS LA REGION DE DAKAR.

par

O. GAYE⁽¹⁾, I. BABOU⁽¹⁾, O. FAYE⁽¹⁾, A. FALL⁽²⁾, J. F. MOLEZ⁽³⁾, I. B. BAH⁽¹⁾,
S. DIALLO⁽²⁾

SUMMARY

STUDY OF MALARIA MORBIDITY AND EFFICIENCY OF ANTIMALARIAL
DRUGS IN DAKAR (SENEGAL).

During November and December 1992, the authors surveyed the malaria morbidity and the drugs efficiency in an urban area of Dakar region.

Malaria represented 13,68 % of the fevers in Dakar district and 12,4 % in Pikine. The mean parasitic density was evaluated at 5000/mm³.

Good efficiency of antimalarial drugs were noted but chloroquinoreistance is present with 24 % of prevalence.

I - INTRODUCTION

La morbidité palustre est un des meilleurs critères d'évaluation du paludisme comme problème de Santé publique.

La connaissance de la part réelle du paludisme dans la pathologie générale et dans la pathologie fébrile est importante quand on sait que le diagnostic du paludisme au niveau d'un très grand nombre de formations sanitaires est souvent porté après examen clinique dont la fiabilité n'est pas toujours parfaite.

D'autre part, les problèmes thérapeutiques causés par la résistance du *Plasmodium falciparum* à certains antipaludéens compromettent les efforts de la lutte et il est dès lors urgent de procéder à des évaluations

régulières de l'efficacité des antipaludéens.

Aussi, nous nous sommes proposés dans ce présent travail, d'évaluer la morbidité palustre et l'efficacité thérapeutique des antipaludéens les plus employés dans la région de Dakar où le paludisme est endémique avec une recrudescence de la transmission durant la saison des pluies.

II - ZONES D'ETUDE

L'étude s'est déroulée au cours des mois de novembre et de décembre 1992 dans les communes de Dakar et Pikine au niveau de quatre formations sanitaires choisies en raison du nombre important de malades reçus quotidiennement et de leur rayon d'attraction qui couvre beaucoup de quartiers populaires : Centre de santé Nabil Choucair, les Postes de Santé n° 1 et 2 à Grand Yoff et le Poste de Santé des Soeurs de Pikine.

III - MATERIEL ET METHODE

Commune de Dakar

— Tous les malades se présentant aux Postes de Consultations tenus par des médecins ou des infirmiers ont fait l'objet d'un interrogatoire minutieux et d'un examen clinique.

(1) Service de parasitologie, Faculté de Médecine, UCAD, Sénégal.

(2) Centre de Santé Nabil Choucaire, Dakar.

(3) ORSTOM, unité Paludologie.

TABLEAU I

Distribution de 95 accès fébriles selon l'âge, la présence de *Plasmodium falciparum*, les densités parasitaires moyennes (DPM) et les températures moyennes.

AGE	0-23 mois	2-4 ans	5-9 ans	10-14 ans	15-19 ans	≥ 20ans	2-9 ans	TOTAL
Fébriles	9	7	8	8	23	40	15	95
Positifs	2	0	0	2	2	7	0	13
DPM	3672	-	-	5688	841	3890	-	3241
T° moy.	39°3C	-	-	38°5C	37°9C	38°8C	-	38°7C

• Ceux qui présentaient une fièvre ($t^{\circ} \geq 37^{\circ}9$), quelquefois accompagnée de l'un ou plusieurs des signes suivants : céphalées, algies diffuses, vomissements, toux et diarrhée chez l'enfant, et qui étaient présumés atteints d'accès palustre nous ont été envoyés pour la réalisation d'une goutte épaisse avant le traitement.

— Puis une dose curative d'antipaludéens leur est prescrite.

— Ils étaient invités à se présenter à J7 pour contrôle clinique et parasitologique. Les étalements ont été colorés au Giemsa et examinés au microscope pour la recherche et la numération des *Plasmodium*

Commune de Pikine

— Tous les sujets fébriles suspects de paludisme recevaient après le prélèvement sanguin une dose curative de 25 mg de chloroquine par kilogramme de poids corporel répartie en 3 jours : 10 mg/kg les deux premiers jours et 5 mg/kg le 3ème jour.

— Ensuite les malades étaient invités à se présenter à J2, J4, J7 et J14 pour contrôle clinique et parasitologique. Mais seuls 23 patients sont venus régulièrement aux contrôles. Deux autres patients recrutés dans la Commune de Dakar avaient été incorporés dans le test.

Le diagnostic d'accès palustre était porté devant l'association d'un état fébrile ($t^{\circ} \geq 37^{\circ}9C$), la présence de *Plasmodium* à l'étalement sanguin et l'efficacité du traitement spécifique antipalustre. Les malades retrouvés porteurs de parasites à J7 recevaient une dose curative de sulfadoxine-pyriméthamine (Fansidar(R))

— Au contrôle de J7,

Il était demandé aux patients, le nombre de jours d'arrêt de travail ou d'école. Nous avons ainsi tenté d'estimer l'impact socio-économique du paludisme.

IV - RESULTATS

Evaluation de la morbidité palustre

— Commune de Dakar

• Durant notre étude

* 1973 patients sont venus en consultation parmi lesquels 95 sujets étaient fébriles et suspects cliniquement de paludisme, soit un pourcentage de fébriles de 4,82 %.

* Chez les sujets fébriles, seuls 13 hébergeaient dans leur sang périphérique *Plasmodium falciparum* qui fut la seule espèce plasmodiale rencontrée, soit un taux de 13,68 % (13/95). Le paludisme représente ainsi 13,68 % de la pathologie fébrile.

* La tranche d'âge de 10-14 ans est proportionnellement la plus représentée. En effet, sur 8 patients suspects cliniquement de paludisme, 2 avaient le *Plasmodium falciparum* soit un taux de 25 %.

* Les sujets âgés de plus de 14 ans hébergeaient aussi le *Plasmodium* avec un taux non négligeable 14,28 % (9/63).

• Nous avons réparti nos malades selon les densités parasitaires moyennes, les températures moyennes et la tranche d'âge.

* Les densités parasitaires variaient de 181 à 185391 hématies parasitées/mm³ (HPM). La densité parasitaire moyenne était de 3241 hématies parasitées/mm³ et 38,46 % (5/13) porteurs de *Plasmodium falciparum* présentaient des densités parasitaires supérieures à cette valeur. Les fortes densités étaient retrouvées chez les adolescents de 10-14 ans (5688 hématies parasitées par mm³). Les adultes étaient infestés aussi à des taux élevés (3890 hématies parasitées par mm³).

Il n'a pas été observé de différence significative dans les niveaux des densités parasitaires en fonction de l'âge.

TABLEAU II
Distribution de 371 accès fébriles selon l'âge, la présence de *Plasmodium falciparum*, les densités parasitaires moyennes (DPM) et les températures moyennes.

AGE	0-23 mois	2-4 ans	5-9 ans	10-14 ans	15-19 ans	≥ 20ans	2-9 ans	TOTAL
Fébriles	85	58	58	35	28	107	116	371
Positifs	1	7	7	7	9	15	14	46
DPM	20830	27039	7969	46060	80484	3938	3416	14984
T° moy.	40°7C	39°2C	38°4C	38°7C	38°C	38°3C	38°8C	38°4C

*Les températures corporelles étaient relativement élevées avec une moyenne de 38°7C et maximales chez les enfants de 0 à 23 mois (39°5C).

Commune de Pikine

• Durant notre étude

*371 cas fébriles dont 238 enfants (0-14 ans) et 133 adultes (>15 ans ont été consultés). 46 sujets (22 enfants et 24 adultes) hébergeaient dans leur sang périphérique *Plasmodium falciparum* qui était la seule espèce plasmodiale rencontrée soit un taux de positivité de 12,40 % (46/371).

*Si nous considérons comme critère de diagnostic de l'accès palustre la fièvre, la présence de *Plasmodium* et un traitement spécifique antipalustre efficace, la part du paludisme dans la pathologie fébrile était évaluée à 12,40 % (46/371).

*Dans le tableau II nous présentons la distribution des malades suivant les densités parasitaires moyennes, les températures moyennes et la tranche d'âge.

*Les densités parasitaires variaient de 332 à 372.666 Hématies parasitées/mm³ avec une moyenne géométrique de 14984 hématies parasitées par mm³ 47,83 % des porteurs de *Plasmodium falciparum* pré-

sentaient des densités parasitaires supérieures à cette valeur.

*Les plus fortes densités étaient retrouvées chez les sujets âgés de 15 à 19 ans avec une moyenne de 80484 hématies parasitées/mm³ ce qui témoigne d'une absence notable d'immunité de prémunition. Il n'a pas été observé de différence significative dans les niveaux des densités parasitaires en fonction de l'âge ($p < 0,5$). La prévalence du paludisme chez les enfants était de 47,83 % (24/46).

*Les températures corporelles des malades variaient de 37°9 à 41°C avec une moyenne de 38°4C. 52,17 % des malades avaient une température légèrement supérieure à la moyenne. Les températures étaient plus élevées chez les enfants de 0 à 23 mois avec une valeur moyenne de 40°7C.

*C'est la fièvre avec 24,53 % qui était le principal motif de consultation suivie de l'asthénie (22,64 %) et les céphalées (18,87 %).

L'impact socio-économique

— Les activités professionnelles des paludéens rencontrés étaient notées ainsi que le nombre de jours d'arrêt de travail ou d'école.

• Dans le tableau III, nous donnons pour chaque

TABLEAU III
Distribution selon la profession, le nombre de personnes consultées et la moyenne des jours d'inactivité.

Profession	Nbre de personnes consultées	Nbre moy. de jours d'inactivité
Elève ou Etudiant	8	4
Domestiques	7	6
Ménagères	10	5
Travailleurs secteur informel	7	5
Salariés	6	2

proportion le nombre de personnes consultées et la moyenne des jours d'absence ou d'inactivité.

- Le nombre de jours d'arrêt de travail ou d'école varient de 2 à 6 jours avec une moyenne de 5 jours.

Si l'impact économique du paludisme peut être difficile à estimer chez les ménagères et les élèves, chez ces derniers cependant l'évaluation des performances scolaires pourraient constituer un indicateur. Chez les autres groupes l'impact économique du paludisme pourrait être calculé.

En considérant le revenu moyen du salarié Sénégalais à 30 000 F CFA par mois et qu'il fait deux accès de paludisme par an, les pertes dues au paludisme pourraient être estimées à 10000 F CFA par an et par personne, ce qui est déjà important dans un pays en développement.

Evaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludeens

— Commune de Dakar

- Les contrôles effectués à J7 avaient montré chez la plupart des malades une bonne évolution clinique, une disparition de la fièvre et de la parasitémie.

Globalement nous remarquons que tous les sujets qui avaient suivi correctement leur traitement ont été guéris avant J7. Seuls deux enfants traités avec la quinine présentaient une parasitémie élevée et de la fièvre. Mais après interrogatoire on s'est rendu compte que l'observance n'était pas bonne. Aussi le traitement a été repris avec les mêmes médicaments.

- A Pikine

Dans le tableau IV figure la variation des taux de guérison des 25 patients venus régulièrement aux contrôles.

- *Les examens cliniques effectués régulièrement ont montré une bonne évolution chez la plupart des malades.

- *La fièvre avait disparu en 24 heures chez 80 %

des patients, 48 heures chez 88 % des patients et 72 heures pour les autres.

- *Nous avons rencontré 2 cas de résistance in vivo de type RII, 1 cas de résistance de type RI précoce et 3 cas de résistance de type RI tardif. Au total, il y a eu 6 cas de résistance, soit un taux de 24 % (6/25).

V - DISCUSSION

La morbidité palustre

— Dans les zones étudiées à Dakar, la part du paludisme dans la pathologie fébrile est évaluée à 13,68 % (13/95), tandis qu'à Pikine elle était de 12,40 % (46/371).

- GAYE et coll. (6,7) au cours d'études menées en milieu urbain dans des Centres de Santé durant les mois d'Octobre, Novembre de 1987, 1988 et 1990 avaient trouvé des taux respectifs de 50,85 %, 31,16 % et 28,30 % représentant la part du paludisme dans la pathologie fébrile.

- BAUDON (2) avait trouvé une valeur de 21,40 % pour la part du paludisme dans la pathologie fébrile au cours d'une étude effectuée de novembre 1982 à octobre 1983 dans le Service de Pédiatrie de l'Hôpital de Bobo-Dioulasso,

En zone de savane, le même auteur (1) évaluait la part du paludisme dans la pathologie fébrile à 30 % et à 6,3 % dans la pathologie générale.

- Si d'une manière générale 30 % en moyenne de la pathologie fébrile dans ces zones sont dues au paludisme durant les périodes de transmission, nous remarquons cependant au cours de notre étude la diminution de la prévalence palustre par rapport aux années précédentes. Ceci pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs :

- *La diminution de la pluviométrie observée ces dernières années qui a entraîné une diminution de la

TABLEAU IV
Variation des taux de guérison

Étalement sanguin (GIEMSA)	Durée				
	J0	J2	J4	J7	J14
P+ (présence de plasmodium)	25	17	5	3	3
P- (absence de plasmodium)	0	8	20	22	22
Taux de guérison (%)	0	32	80	88	88

transmission et donc des cas de paludisme.

*Une meilleure connaissance et une meilleure utilisation des médicaments antipaludéens dont certains sont devenus plus accessibles.

*Une meilleure politique de prévention.

Il est possible cependant qu'il y ait eu une sous-estimation de nos résultats, car certains sujets font de l'auto-traitement et jugent inutile d'aller en consultation.

— Répartition des malades selon l'âge

• En zone rurale où la transmission est plus importante, ce sont les enfants qui représentent la fraction de la population la plus atteinte parce que la plus vulnérable. Les adultes du fait de la prémunition sont plus protégés.

• Dans les zones urbaines par contre où la transmission n'est pas importante, les niveaux de paludisme sont plus faibles. Aussi les forts taux de prévalence observés chez les adolescents et les adultes jeunes aussi bien à Dakar qu'à Pikine, nous étonnent sur le caractère incomplet de l'immunité antipalustre en zone d'endémie.

— Seuil des densités parasitaires

La notion de seuil de densité parasitaire est fondamentale. C'est un critère fiable permettant de distinguer les fièvres dues au paludisme de celles dues à d'autres causes.

• En prenant le seuil de 10000 hématies parasitées par mm^3 comme critère parasitologique de l'accès palustre, nous observons à Dakar 5 cas d'accès palustre sur 13 porteurs de *Plasmodium* (38,46 %) avec 2 enfants et 3 adultes ; tandis qu'à Pikine, nous avons 58,70 % (27/46) cas d'accès palustre avec 17 enfants et 10 adultes.

• En prenant le seuil de 5000 hématies parasitées par mm^3 , nous rencontrons à Dakar 38,46 % (5/13) cas d'accès palustre avec 2 enfants et 3 adultes ; tandis qu'à Pikine nous comptons 80,43 % (34/46) cas d'accès palustre avec 19 enfants et 15 adultes.

• En prenant le seuil de 200 hématies parasitées par mm^3 , nous retrouvons à Dakar 11 cas d'accès palustre sur 13 (84,6%), alors qu'à Pikine 46 cas d'accès palustre sur 46 avec 22 enfants et 24 adultes.

• Les densités parasitaires sont plus élevées à Pikine (densité parasitaire moyenne = 14984 hématies parasitées/ mm^3 contre 3241 hématies parasitées/ mm^3 à Dakar) ce qui pourrait s'expliquer par une plus grande transmission dans la zone des Niayes de Pikine.

• Ce seuil est variable

* selon les zones épidémiologiques,

* la période d'étude,

* l'âge

* le degré d'immunité de l'hôte.

Ainsi, en zone urbaine, BRUCE-CHWATT en 1983 (4) fixe le seuil parasitologique pyrogénique à 3890 globules rouges parasités/ mm^3 chez les adultes au Nigéria.

La plupart de nos malades avaient une densité parasitaire supérieure ou égale à 5000 hématies parasitées/ mm^3 comme l'avait déjà constaté GAYE en 1988 (7) et BAUDON (2).

La densité parasitaire de 5000 hématies parasitées/ mm^3 peut être considérée comme seuil pyrogénique à Dakar. Dans ce cas, il est possible qu'il y ait eu une petite sous-estimation du nombre d'accès palustre. En effet, les autres sujets ayant des densités parasitaires inférieures au seuil de 5000 hématies parasitées/ mm^3 pourraient avoir fait de véritables accès palustres d'autant plus qu'avec une meilleure information, les malades peuvent prendre quelques antipaludéens avant de venir en consultation. Cette auto-médication provoquerait ainsi une diminution de la parasitémie.

L'efficacité thérapeutique des antipaludéens

— A Dakar

• Les contrôles cliniques et biologiques effectués ont montré que la chloroquine, la quinine, l'association sulfadoxine-pyriméthamine-méfloquine et l'halofantrine sont très efficaces dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum*.

*La parasitémie s'est négativée et l'état clinique s'est amélioré à J7 chez plus de 84 % des patients qui ont été traités par ces antipaludéens.

*Nos résultats sont comparables à ceux d'autres auteurs qui ont étudié l'efficacité de l'halofantrine et de la méfloquine.

*Les tests *in vivo* menés par DIALLO et coll. (5) sur l'halofantrine à Dakar et sa banlieue en décembre 1988 et janvier 1989 ont montré la disparition de la fièvre dans un délai de $36,3 \pm 19$ heures, une réduction de 93,6 % de la densité parasitaire moyenne dès le lendemain du traitement et une absence de *Plasmodium* chez tous les patients avant J3.

• Une étude effectuée en novembre 1988 à Pikine par HATIN et coll. (12) a montré une bonne sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la méfloquine. En effet sur les 31 malades inclus dans des tests *in vivo*, 29 ont répondu favorablement avec une disparition de la fièvre et de la parasitémie au 4ème jour.

• Concernant les 2 échecs thérapeutiques (15,39 %)

rencontres avec la quinine, ils s'expliquent par le fait que les premiers traitements ont été mal conduits. En effet, la posologie correcte est de 25 mg/kg/J pendant au moins 3 jours. Malheureusement, ce sont des doses infra-thérapeutiques qui sont le plus souvent administrées.

— A Pikine

• Les tests *in vivo* à la chloroquine effectués lors de notre étude ont noté une bonne évolution clinique et parasitologique. Nous avons rencontré 6 cas de résistance, soit un taux de 24 % (6/25).

*Des enquêtes menées par GAYE et coll. (8) et TRAPE (14) donnaient un taux de chloroquinorésistance *in vivo* de 7,2 % à Dakar et Pikine en 1988.

En décembre 1990, le même auteur (9) lors d'une étude réalisée en zone urbaine à Dakar trouvaient un taux de chloroquinorésistance *in vivo* de 47,5 % ; l'efficacité clinique cependant était bonne (78 % de succès cliniques).

*Ainsi à Dakar et sa banlieue Pikine, nous avons constaté une augmentation de la chloroquinorésistance *in vivo* de 1988 à 1990 qui est passé ainsi de 7,2 % à 47,5 %. Elle a diminué en 1992 pour atteindre un taux de 24 %.

• Les niveaux de résistance observés étaient de type RI et RII. Il n'a pas été observé de résistance du niveau RIII et la chloroquine doit rester le médicament de première intention dans le traitement du paludisme.

*La chloroquinorésistance qui épargnait l'Afrique de l'Ouest s'est vite répandue dans cette zone : les premiers cas étaient signalés à Cotonou par LEBRAS et coll. en 1986 (13) puis par GUI-GUEMDÉ et coll. en 1987 (11) et à Sokodé au Togo

par GBARY et coll. en 1987 (10).

*Dakar est un carrefour d'échange, de ce fait les mouvements importants des populations constituent un facteur pouvant favoriser la propagation de la résistance des *Plasmodium* aux antimalariques. D'autres facteurs favorisants sont constitués par la pression médicamenteuse très importante sous forme d'auto-médication à doses généralement infra-thérapeutiques et une chimioprophylaxie très souvent mal conduite. Il est dès lors indispensable de mettre en place des systèmes de surveillance compte-tenu de la vitesse de diffusion de la résistance.

RESUME

Les auteurs ont effectué une étude de novembre à décembre 1992 au niveau de quatre formations sanitaires situées dans les communes de Dakar et Pikine afin d'évaluer la morbidité palustre et l'efficacité thérapeutique des antipaludéens.

La part du paludisme dans la pathologie fébrile était de 13,68 % à Dakar et 12,4 % à Pikine. Les adultes (> 15 ans) étaient aussi infestés que les enfants : 55,9 % contre 44,1 %.

Sur le plan parasitologique plus de la moitié des malades avait une densité parasitaire supérieure ou égale à 5000 hématies parasitées/mm³ et cette densité semble être le seuil pyrogénique.

Concernant l'efficacité thérapeutique, à Dakar, les antipaludéens utilisés (méfloquine-sulfadoxine-pyriméthamine, halofantrine, quinine) ont entraîné une bonne évolution clinique et parasitologique avec un taux de guérison de plus de 84 % avant J7. 2 cas d'échecs thérapeutiques ont été notés avec la quinine utilisée à des doses inférieures à celles normalement recommandées.

A Pikine, la chloroquine a entraîné une bonne évolution clinique et parasitologique. Les taux de guérison étaient de 88 % à J7 et J14. 6 cas de résistance *in vivo* soit 24 % ont été rencontrés tous de niveaux RI ou RII.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BAUDON D., GAZIN P., SANOU J. P. Morbidité palustre en milieu rural au Burkina Faso. Etude de 526 accès fébriles. *Méd. d'Afrique Noire*, 1986, 33, 11, 767-776.
- 2 - BAUDON D., GALAUP B., OUEDRAOGO L., GAZIN P. Une étude de la morbidité palustre en milieu hospitalier au Burkina Faso (Afrique de l'Ouest). *Médecine Tropicale*, 1988, 48, 1, 9-13.
- 3 - BAUDON D. Comment évaluer l'importance épidémiologique du paludisme en zone d'endémie. Exemple d'une région de savane d'Afrique de l'Ouest. *Médecine Tropicale*, 1990, 50, 1, 33-37.
- 4 - BRUCE-CHWATT L. J. Paludisme et urbanisation. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1983, 76, 243-249.
- 5 - DIALLO S., GAYE O., BAH I. B., TRAPE J. F., KONATE L., LEGROS C., DIENG TH., FAYE O. Essai de l'halofantrine dans le traitement de l'accès palustre à *Plasmodium falciparum* à Dakar (Sénégal). *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1991, 84, 298-303.
- 6 - GAYE O., BAH I. B., DIALLO S., FAYE O., BAUDON D. Une étude de la morbidité palustre en milieu rural et urbain au Sénégal, *Médecine Tropicale*, 1989, 49, 1, 59-62.
- 7 - GAYE O., BAH I. B., BENGUA E., DIALLO S., FAYE O. Morbidité palustre en milieu urbain. Etude de 353 accès fébriles. *Médecine Tropicale*, 1989, 49, 4, 401-404.
- 8 - GAYE O., BAH I. B., DIALLO S., VICTORIUS A., BENGUA E., FAYE O. Emergence du paludisme chloroquinorésistant à Dakar (Sénégal). *Ann. Soc. Belg. Méd. Trop.*, 1990, 70, 33-37.
- 9 - GAYE O., FAYE O., BAH I. B., DIALLO S., DIOUF M., NDIAYE P., NDIAYE A. A., TRAPE J. F. Evolution de la chloroquinorésistance en zone urbaine. Résultats d'enquêtes menées à Dakar et Pikine. *Ann. Soc. Belg. Méd.*

- Trop*, 1991, 71, 319-330.
- 10 - GBARY A. R., OUEDRAOGO J. B., GUIGUEMDE T. R. Emergence du paludisme chloroquiné-résistant en Afrique de l'Ouest : cas de Sokode (Togo). *Trop. Méd. Parasitol.*, 1988, 89, 142-152.
 - 11 - GUIGUEMDE T. R., OUEDRAOGO J. B., GBARY A. R. Emergence of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* in West-Africa : Conference in Cotonou (Benin). *Doc. Techn. O. C. C. G. E.*, 1987, 9039, 16 pp.
 - 12 - HATIN I., TRAPE J. F., LEGRAS F., BRUCHET J., LEBRAS J. Susceptibility of *Plasmodium falciparum* strains to mefloquine in an urban area in Senegal. *Bulletin of the world health organization*, 1992, 70, 3, 363-367.
 - 13 - LEBRAS J., HATIN I., BOUREE P., COCO-CIANI O., GARIN J. P., REY M., CHARMOT G., ROUE R. Chloroquine resistant *falciparum* malaria in Benin, *Lancet*, 1986, ii, 1043-1044.
 - 14 - TRAPE J. F., LEGROS F., NDIAYE P., KONATE L., BAH I. B., DIALLO S., VERDIER F., HATIN I., LEBRAS J. Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal. *Trans. Roy. Soc. Trop Med Hyg.*, 1989, 83, 761.

Impact of chloroquine resistance on malaria mortality

Impact de la résistance à la chloroquine sur la mortalité palustre

Jean-François Trape^{a*}, Gilles Pison^b, Marie-Pierre Preziosi^c, Catherine Enel^b, Annabel Desgrées du Loû^a, Valérie Delaunay^c, Badara Samb^c, Emmanuel Lagarde^b, Jean-François Molez^a, François Simondon^a

^a Laboratoire de paludologie, Orstom, BP 1386, Dakar, Senegal

^b Laboratoire d'anthropologie biologique, UMR 152 CNRS, Muséum national d'histoire naturelle, musée de l'Homme, place du Trocadéro, Paris, France

^c Projet Population et santé à Niakhar, Orstom, BP 1386, Dakar, Senegal

(Received 16 April 1998, accepted 8 June 1998)

Abstract – Over 12 years, from 1984 to 1995, we conducted a prospective study of overall and malaria specific mortality among three rural populations in the Sahel, savanna and forest areas of Senegal. The emergence of chloroquine resistance has been associated with a dramatic increase in malaria mortality in each of the studied populations. After the emergence of chloroquine resistance, the risk of malaria death among children 0–9 years old in the three populations was multiplied by 2.1, 2.5 and 5.5, respectively. This is the first study to document malaria mortality at the community level in Africa before and after the emergence of chloroquine resistance. Findings suggest that the spread of chloroquine resistance has had a dramatic impact on the level of malaria mortality in most epidemiological contexts in tropical Africa. (© Académie des sciences / Elsevier, Paris.)

malaria / *Plasmodium falciparum* / drug resistance / chloroquine / mortality / Africa

Résumé – L'évolution de la mortalité palustre et de la mortalité générale a été suivie prospectivement pendant 12 ans, de 1984 à 1995, dans trois populations rurales du Sénégal situées respectivement au Sahel, en savane soudanienne et en zone de forêt. Dans chacune de ces communautés, l'émergence de la résistance à la chloroquine a été associée à une forte augmentation de la mortalité palustre. Après l'émergence de la résistance à la chloroquine, le risque de décès palustre chez les enfants de 0 à 9 ans a été multiplié par 2,1, 2,5 et 5,5, respectivement, dans les trois populations. Cette étude est la première qui documente la mortalité palustre au niveau communautaire en Afrique avant et après l'émergence de la résistance à la chloroquine. Ses résultats suggèrent que la diffusion de la résistance à la chloroquine a eu un impact majeur sur le niveau de la mortalité palustre dans la plupart des contextes épidémiologiques rencontrés en Afrique tropicale. (© Académie des sciences / Elsevier, Paris.)

paludisme / *Plasmodium falciparum* / résistance médicamenteuse / chloroquine / mortalité / Afrique

Note communicated by Jean Rosa

*Correspondence and reprints

Current address: Centre Orstom de Montpellier, BP 5045,

34032 Montpellier cedex 1, France

E-mail: trape@melusine.rnpl.orstom.fr

Version abrégée

La lutte antipaludique en Afrique tropicale est presque exclusivement basée sur le traitement présomptif des cas de fièvre, principalement en utilisant la chloroquine qui est le moins cher des médicaments antipaludiques. Ces 15 dernières années, la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine s'est étendue à l'ensemble de l'Afrique mais son impact sur la mortalité palustre n'est pas connu. Pendant 12 ans, de 1984 à 1995, nous avons conduit une étude prospective de la mortalité palustre et de la mortalité générale dans trois populations rurales du Sénégal situées respectivement en zone de savanne soudanienne (Bandafassi : 38 villages, 8 612 habitants en 1995), au Sahel (Niakhar : 30 villages, 28 399 habitants en 1995) et en zone de forêt (Mlomp : 11 villages, 7 287 habitants en 1995). Tous les décès qui survenaient dans les trois populations d'études ont été étudiés par la technique de l'autopsie verbale et l'examen des données de source médicale éventuellement disponibles. Les niveaux de résistance à la chloroquine ont été déterminés par des tests *in vivo*.

L'émergence de la résistance à la chloroquine, qui est survenue en 1990 à Mlomp, en 1992 à Niakhar et en 1993 à Bandafassi, a été associée à une augmentation considérable de la mortalité palustre dans chacune des populations d'étude. À Mlomp, où le paludisme était hypoendémique et la mortalité des enfants était faible en raison de la mise en oeuvre d'une chloroquinisation de masse et d'importants programmes de santé, le paludisme est devenu mésoendémique et la mortalité

attribuable au paludisme chez les enfants de moins de 10 ans a augmenté de 5,5 fois. L'augmentation de la mortalité palustre a été particulièrement forte entre 0 et 4 ans, avec respectivement 0,5, 3,4 et 5,5 décès pour 1 000 enfants annuellement lors des périodes 1985–1989, 1990–1992 et 1993–1995. À Bandafassi, une zone de paludisme holoendémique où l'accès à des structures médicales était particulièrement difficile, la mortalité attribuable au paludisme chez les enfants de moins de 5 ans a augmenté de 2,5 fois, atteignant respectivement 4,2 et 10,3 pour 1 000 annuellement lors de périodes 1984–1992 et 1993–1995. À Niakhar, où la transmission du paludisme était la plus faible des trois zones d'études (environ dix piqûres infectantes par personne par an, soit environ trois fois moins qu'à Mlomp et 40 fois moins qu'à Bandafassi) la mortalité attribuable au paludisme chez les enfants de moins de 10 ans a doublé, atteignant respectivement 4,0 et 8,2 pour 1 000 annuellement lors des périodes 1984–1991 et 1992–1995.

Ces données sont les premières qui décrivent l'évolution de la mortalité palustre dans des populations africaines avant, pendant et après l'émergence de la résistance à la chloroquine. Elles suggèrent que la diffusion de la résistance à la chloroquine a eu un impact très grave sur la mortalité palustre dans une grande diversité de contextes épidémiologiques en Afrique. Dans le cas du Sénégal, ces observations pourraient expliquer pourquoi la mortalité générale des enfants, qui était en diminution constante depuis les années 1950, à cesser de décroître depuis le début des années 1990.

1. Introduction

Plasmodium falciparum malaria is one of the main causes of morbidity and mortality in tropical Africa. According to WHO, it is responsible for about 270–480 million clinical attacks and 1.4–2.6 million deaths every year [1]. Malaria control in Africa is almost exclusively based on chemotherapy, mainly using chloroquine which is the cheapest antimalarial drug [2]. Easy to use and until recently highly effective, chloroquine is routinely prescribed by out-patient clinics to treat fevers. Along with aspirin, it is also the only drug which is frequently kept at home by families and used for self-treatment.

Chloroquine-resistant strains of *P. falciparum* were first observed during 1978 in East Africa. Between 1978 and 1988, resistant parasites have been reported in all countries of tropical Africa [3]. In each newly affected country, chloroquine resistance has progressed in three different ways: a) it has spread in a growing number of locations and regions in the country; b) the prevalence of resistant strains in each area has increased; c) the degree of resistance has intensified, with a relative reduction in RI type responses (initial disappearance of parasitaemia when treated, but with further reappearance) in favour of RII type responses (initial reduction without disappearance of

parasitaemia following standard treatment) and the occurrence of RIII type responses (absence of a reduction of parasitaemia when treated).

The consequences of chloroquine resistance on the evolution of malaria mortality in Africa are poorly known. Most studies of malaria mortality at the community level have been short term. None of 28 studies recently reviewed [4] included data collected from the same community prior to and following the emergence of chloroquine resistance. Furthermore, few hospital data are available. To our knowledge, the only studies published concern hospitals in Malawi, Kinshasa (Zaire) and Brazzaville (Congo), where an increase in malaria patients and malaria deaths temporally related to the emergence of chloroquine resistance has been observed [5–7].

In Senegal, long-term demographic surveillance programmes were initiated in three rural areas of the country between 1963 and 1984 [8–10]. Since 1984, a continuous study of the causes of death has been added to the registration of demographic events and specific data on malaria have been collected in each area. The data collected are presented and discussed in this article. They suggest that the emergence of chloroquine resistance has had dramatic effects on malaria mortality in each of the three study populations.

2. Methods

2.1. Study areas and populations

2.1.1 The Bandafassi study area

The Bandafassi study area is located in the Sudan savanna of southeastern Senegal (*figure 1*). Rains are concentrated over a 6-month period from May to October, and annual rainfall averaged 1 097 mm during the period 1984–1995 (*table 1*). The population comprises 8 612 inhabitants (our 1995 census) belonging to three ethnic groups (Mandinka, Fula and Bedik) who live in 38 villages. This is one of the remotest areas in Senegal. There is one small dispensary within the study area but access to health care is always difficult for most villages and almost impossible during the rainy season where the rare tracks are impassable. Since 1970, demographic data have been collected annually [11]. Mortality in children under five was initially higher than 400 per thousand but decreased in the 1980s following the launch of the Expanded Programme on Immunisation [12].

Malaria in Bandafassi is holoendemic with parasite rates in children ranging between 90 and 100% ([13]; Trape, unpublished). A survey of malaria transmission conducted from November 1995 to December 1996 indicated an annual entomological inoculation rate ranging from 206 to 647 infective bites per person per year according to village (Trape and Fontenille, unpublished). Transmission is seasonal, from June to December, and

Table 1. Annual rainfall in the three study areas, 1984–1995.

Year	Bandafassi*	Niakhar	Mlomp°
1984	1 222	371	1 186
1985	1 272	395	1 076
1986	1 173	227	1 079
1987	1 103	547	1 277
1988	995	506	1 284
1989	1 031	514	1 598
1990	808	311	1 255
1991	1 126	382	1 428
1992	936	395	1 051
1993	1 167	444	1 231
1994	1 289	525	1 200
1995	1 041	614	1 097
Mean	1 097	436	1 230

* Kedougou station (14 km from Bandafassi), ° Oussouye station (12 km from Mlomp).

four anopheline species play a role as vector: *An. gambiae*, *An. funestus*, *An. arabiensis* and *An. nili*.

2.1.2. The Niakhar study area

The Niakhar study area is located in the Sahel, 120 km southeast of the capital city of Dakar (*figure 1*). Rains are concentrated over a 3-month period, from July to the beginning of October. Annual rainfall averaged 436 mm for the period 1984–1995 (*table 1*). The population comprises 28 399 inhabitants (our 1995 census), belonging to the Sereer ethnic group, who are distributed among 30

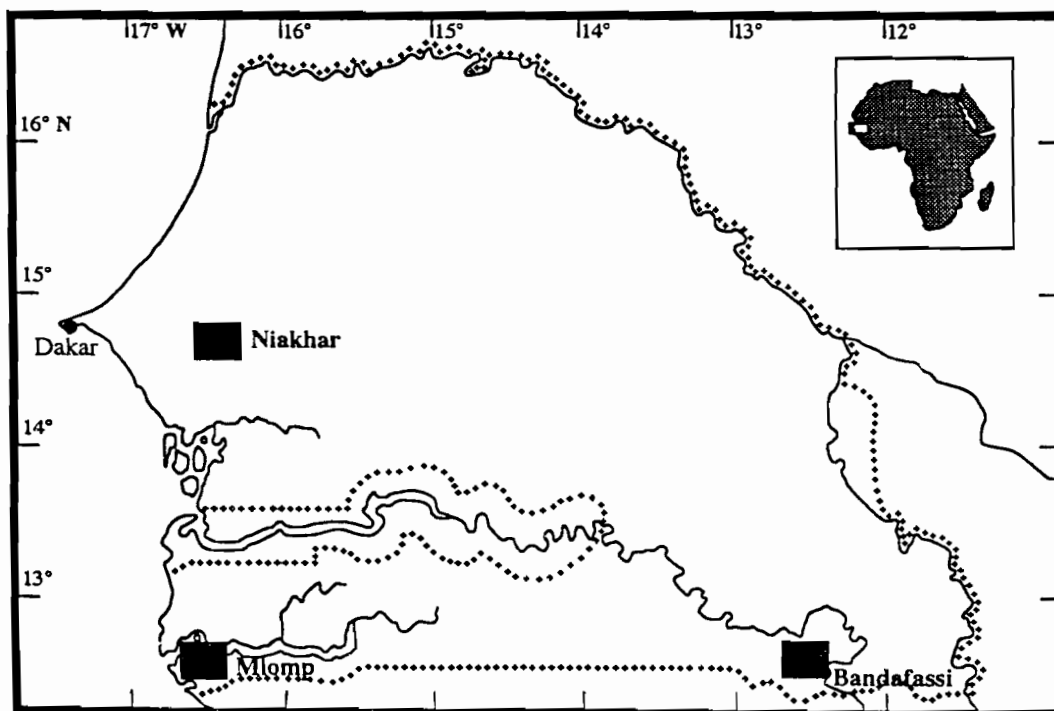


Figure 1. Map of Senegal showing the localisation of the three study areas.

villages made up of several different hamlets. There are three dispensaries within the study area. Demographic surveillance was started in 1963, and from 1983 onwards it was extended to the whole current study area [14]. Immunisation coverage of children has considerably improved since 1987 when the study area was selected for clinical trials of new vaccines against measles and whooping cough [15–18].

Old and recent malaria surveys conducted in Niakhar show that the parasite rate in children is usually less than 50 % but can reach 80 % at the end of the rainy season (Trape et al., unpublished). A survey carried out in 1995, a year of heavy rainfall, showed an average entomological inoculation rate of ten infective bites per person per year [19]. Transmission by *An. arabiensis* is almost exclusively concentrated in September and October.

2.1.3 The Mlomp study area

The Mlomp study area is located in southwestern Senegal (Casamance), an area of forest and mangrove (figure 1). Rains are concentrated over a 6-month period, from June to November. The average annual rainfall was 1 230 mm for the period 1984–1995 (table 1). The population comprises 7 287 inhabitants (1995), belonging to the Joola ethnic group, who are distributed among 11 villages with houses scattered in the forest. Since 1961 the study area has had particularly active health services run by nun nurses from a Catholic health centre which includes a maternity clinic, an out-patient clinic, 12 in-patient beds and a small laboratory. Important health care programmes were gradually set up between 1961 and 1975 and they were all very well supported by the community. The probability of dying before the age of five, which, from 1930 to 1965, was between 350 and 400 per thousand livebirths, subsequently decreased to less than 100 per thousand in the 1980s [10].

Malaria surveys carried out in the 1960s indicated that malaria was mesoendemic. From 1975 to 1994, a control programme promoting chloroquine chemoprophylaxis during the rainy season and home treatment of fever was conducted each year by the nuns and the local health committee. Until 1989, this programme reduced the parasite rate of children during the rainy season to less than 10 % [10]. Following the emergence of chloroquine resistance in 1990, the parasite rate of children rose sharply reaching 46 % in 1992 and 51 % in 1994 [20]. A survey of malaria transmission carried out in 1995 showed an entomological inoculation rate of 30 infective bites per person per year (Trape and Fontenille, unpublished). Malaria transmission, almost exclusively by *An. gambiae* s.s., is strictly seasonal from July to December.

2.2. Assessment of the rates and causes of mortality

The mortality data presented in this article cover a 12-year period (1984–1995) for the Niakhar and Bandafassi study areas, and an 11-year period (1985–1995) for the

Mlomp study area. The demographic monitoring systems for each study population have been presented elsewhere [10, 11, 14]. Briefly, annual censuses were conducted to collect information on births, deaths, migrations and marriages. In Niakhar, each compound was visited once a week from 1987 to 1995; the demographic information was collected during these weekly visits and its accuracy was checked during the annual census.

All deaths which occurred among the three study populations (except adult deaths in Bandafassi) were the subject of a post mortem investigation among bereaved relatives using the verbal autopsy technique. For each study area, there were no changes in the technique of verbal autopsy during the study period. The same questionnaire was used for the three studies [21]. The causes of deaths were determined from the responses to these questionnaires and from any available medical information. For Bandafassi, and to a lesser extent Niakhar, data collected by verbal autopsy were the main source of information allowing the circumstances and causes of death to be established. Each questionnaire was examined by two or three physicians and the cause of death was attributed by consensus between at least two reviewers. Every death for which the cause was classified as undetermined and a sample of deaths from each determined cause were re-examined at the end of the study.

In the case of Mlomp, medical information was available for 73 % of deaths. For each activity (consultation, hospitalisation, laboratory tests, monthly weighing of children under 3 years, prenatal visits, birth delivery, vaccination) detailed registers were kept by the missionary nurses. For each patient, the consultation register in particular noted which signs and symptoms had been observed, the laboratory test results, the diagnosis and which treatment had been administered. Moreover, a special register was kept to record all the deaths that the staff of the health centre was aware of, whether or not the patient had died at home or during hospitalisation. The causes of death were established by a physician after reviewing medical registers and verbal autopsy. If there was any discrepancy between the information supplied by verbal autopsy and that supplied by the registers, a supplement enquiry was carried out among the nursing staff and the deceased's family.

2.3. Emergence and evolution of chloroquine resistance

In Senegal, chloroquine-resistant *P. falciparum* initially emerged in October 1988 in Dakar [22]. The first cases of in vivo resistance in other regions of the country were observed in 1990, including cases at the RIII level [23]. However, only isolated cases were found at that time and, in 1990 and 1991, most rural areas were considered free of chloroquine resistance despite the rapid progression of the prevalence of resistant strains in Dakar. In the case of the three study areas, the first therapeutic failures with chloroquine were observed by the out-patient clinic staff of Mlomp in 1990, Niakhar in 1992 and Bandafassi in

1993. These dates were considered as the first year with chloroquine resistance in these areas [20]. The following years, standardised surveys of the prevalence of chloroquine-resistant *P. falciparum* were carried out in Mlomp (four annual surveys from 1991 to 1994), in Niakhar (four annual surveys from 1993 to 1996) and in Bandafassi (two surveys in 1994 and 1995). The results of these surveys have been presented in detail elsewhere [20]. High levels of chloroquine resistance appeared rapidly in Mlomp (RII and RIII: 36 % in 1991, 30 % in 1992, 41 % in 1994, 46 % in 1995). Chloroquine resistance progressed less rapidly in Niakhar (RII and RIII: 10 % in 1993, 15 % in 1994, 17 % in 1995, 29 % in 1996) and in Bandafassi (RII: 6 % in 1994, 16 % in 1995).

2.4. Statistical analysis

To investigate the impact of chloroquine resistance on malaria mortality, we used a Poisson regression analysis available in the software package EGRET[®] (Statistical and Epidemiology Research Corp., Seattle, WA, USA). The outcome variable was the number of deaths attributable to malaria and the rate multiplier variable was the number of person-years under survey.

3. Results

3.1. Bandafassi study area

Table II shows the evolution of overall mortality in children from 1984 to 1995. The risk for a new born child to die before reaching age 5 years, which was approximately 350 per thousand until 1985, fluctuated between 200 and 300 per thousand the following years. It was on average 260 per thousand for the period 1993–1995.

Table II. Trends in overall mortality, Bandafassi, 1984–1995: probability for a new born child of dying before its first birthday (${}_1q_0$), or before reaching age 5 (${}_5q_0$), probability of dying between the ages of 1 and 5 (${}_4q_1$), probability of dying between the ages of 5 and 10 (${}_5q_5$), per thousand.

Year	${}_1q_0$	${}_4q_1$	${}_5q_0$	${}_5q_5$
1984	200	155	324	79
1985	170	242	370	26
1986	146	100	232	21
1987	139	137	256	20
1988	131	105	222	20
1989	144	162	282	37
1990	102	110	201	14
1991	152	166	293	21
1992	159	148	284	45
1993	178	149	301	16
1994	138	148	266	46
1995	113	113	213	19

Malaria attributable mortality was exclusively concentrated in children under 5 (figure 2). From 1984 to 1992, it fluctuated depending on the year between 2.3 and 7.4 annual deaths per thousand and was on average 4.2 per thousand. From 1992 to 1995, it fluctuated between 8.4 and 11.4 per thousand and reached an average of 10.3 per thousand.

3.2. Niakhar study area

Table III shows the evolution of overall mortality in children from 1984 to 1995. The risk for a new born child to die before reaching age 5 years, which was above 300 per thousand the first 2 years of the study, decreased significantly until 1990, when it stabilised around 200 per thou-

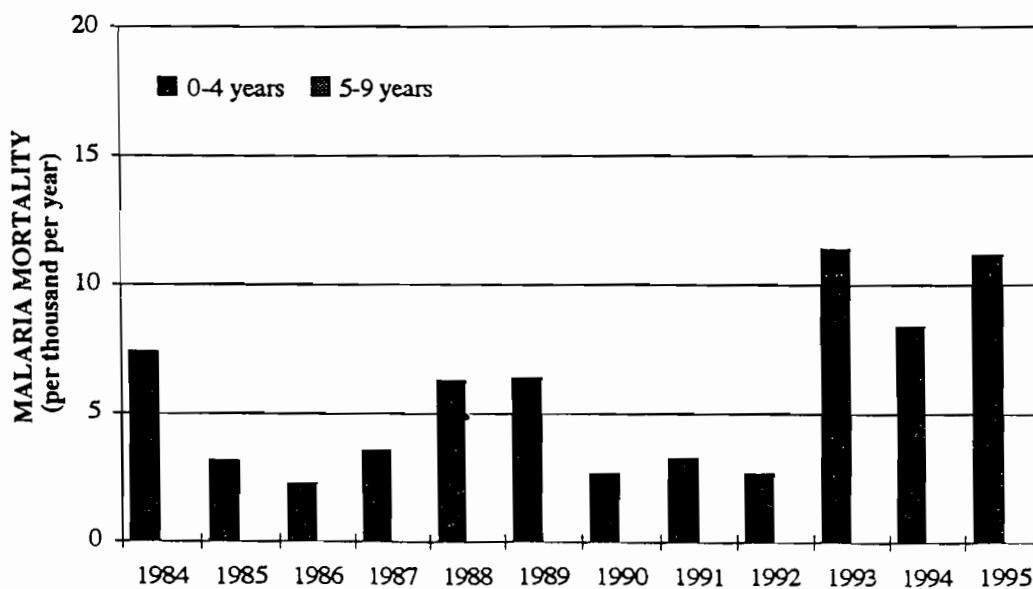


Figure 2. Trends in mortality rates attributable to malaria (deaths/1 000 person-year at risk) for children aged 0–4 years, Bandafassi, 1984–1995. No deaths were attributed to malaria among children aged 5–9 years.

Table III. Trends in overall mortality, Niakhar, 1984–1995

Year	190	491	590	595
1984	129	197	301	29
1985	128	259	354	36
1986	106	154	244	24
1987	121	173	273	30
1988	125	131	239	15
1989	84	111	186	16
1990	96	92	179	15
1991	76	132	198	17
1992	85	130	204	27
1993	86	139	214	27
1994	69	102	164	32
1995	78	124	193	30

sand. Total mortality of children of 5–9 years old dropped by a half between 1984–1985 and 1991, but rose again from 1992 onwards.

Figure 3 shows the evolution of malaria attributable mortality in children under 10. Until 1991, a marked tendency for a decrease in malaria mortality was observed. From 1984 to 1987, the average malaria mortality rate was 7.1 annual deaths per thousand in children under 5 and 1.1 per thousand in children 5–9 years old. From 1988 to 1991, the average malaria mortality rate was 5.4 per thousand per year in children under 5 and 1.2 per thousand per year in children 5–9 years old. From 1992 onwards, a large increase in the number of malaria deaths was observed. During the period 1992–1995, malaria mortality averaged 12.4 per thousand per year in children under 5 and 3.3 per thousand per year in children 5–9 years old.

3.3. Mlomp study area

Table IV shows that of the three study areas, child mortality was lowest in Mlomp. It increased from 1990 onwards: the risk for a new born child to die before reaching age 5 years was on average 94, 120 and 122 per thousand during the periods 1985–1989, 1990–1992 and 1993–1995, respectively. As neonatal mortality had varied very little between 1985 and 1995, this evolution was exclusively due to the increase in deaths occurring after 1 month of age.

Table IV. Trends in overall mortality, Mlomp, 1985–1995.

year	190	491	590	595
1985	68	25	91	6
1986	69	42	108	22
1987	69	91	154	23
1988	32	25	56	11
1989	37	25	61	11
1990	33	145	173	24
1991	47	30	76	17
1992	66	48	111	40
1993	76	43	116	12
1994	70	49	116	12
1995	61	79	135	12

Accurate medical information was available for almost all deaths compatible with a diagnosis of malaria. Furthermore, thick smears were systematically taken from hospitalised and out-clinic patients with a variety of clinical presentations, thus allowing a detailed picture of malaria related deaths to be drawn up. Between 1985 and 1995, a total of 32 deaths were attributed to malaria for

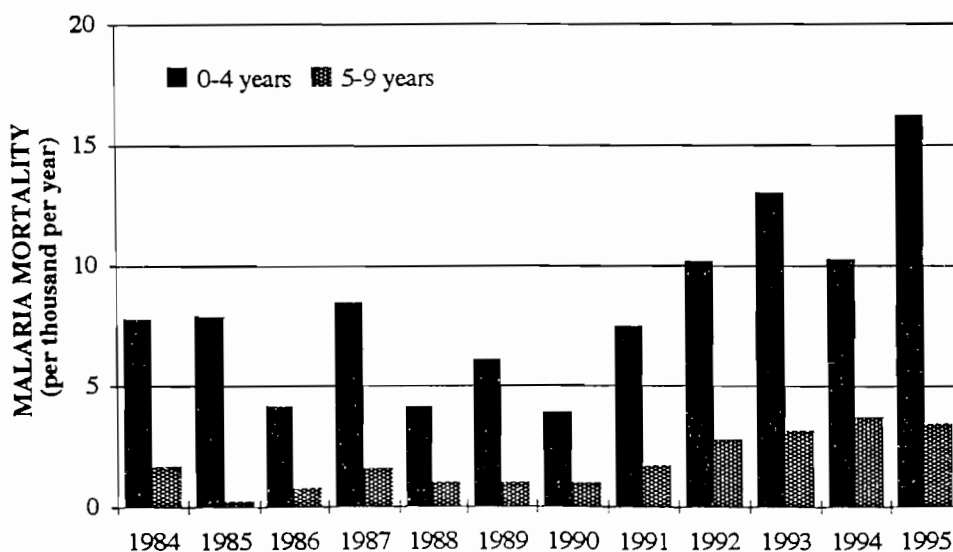


Figure 3. Trends in mortality rates attributable to malaria (deaths/1 000 person-year at risk) for children aged 0–4 years and 5–9 years, Niakhar, 1984–1995

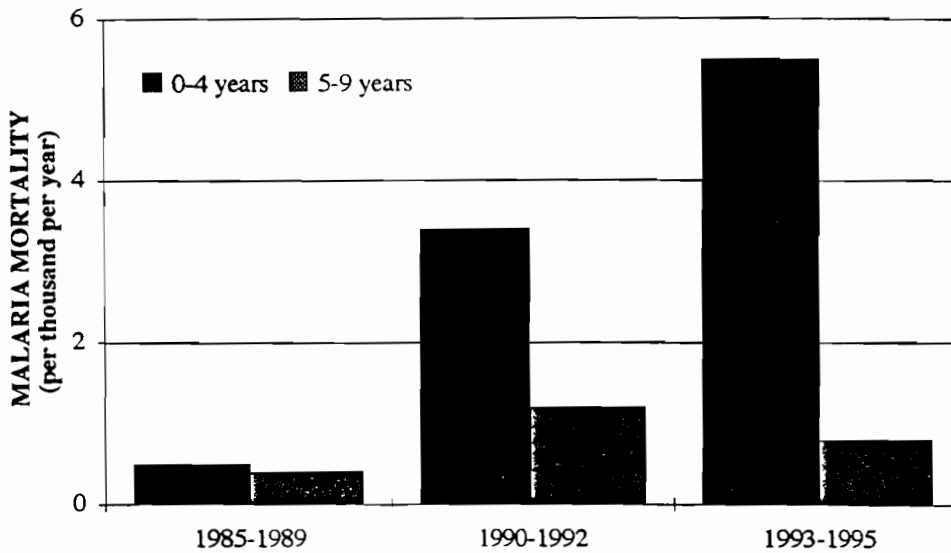


Figure 4. Average mortality rates attributable to malaria (deaths/1 000 person-year at risk) for children aged 0-4 years and 5-9 years, Mlomp, periods 1985-1989, 1990-1992 and 1993-1995.

the whole population of Mlomp. There were 28 cases of cerebral malaria and four cases of severe malarial anaemia. In 31 cases, patients had been hospitalised or had consulted at the out-patient clinic during their terminal illness. Between 1985 and 1989 only four deaths from malaria were observed, and all were cases of cerebral malaria. During this period, the average annual malaria mortality rate was 0.4 per thousand per year in children 0-4 years old and 0.5 per thousand per year in children 5-9 years old. Between 1990 and 1995, 28 deaths from malaria were observed, including a child aged 11 years and a 15-year-old adolescent who had spent most of his life in Dakar. Figure 4 shows that since 1990 the increase in malaria mortality has been particularly large in young children. The average malaria mortality rate in children under 5 reached 3.3 per thousand per year for the period 1990-1992 and 5.5 per thousand per year for the period 1993-1995.

3.1. Global analysis

After the emergence of chloroquine resistance, the risk of malaria death among children 0-9 years old was multiplied by 5.5 (CI 95 %: 1.9-15.8) in Mlomp, by 2.5 (1.7-3.6) in Bandafassi and by 2.1 (1.8-2.5) in Niakhar. Among children 0-4 years old, the risk of malaria death was multiplied by 8.8 (2.1-37.7) in Mlomp, by 2.5 (1.7-3.7) in Bandafassi and by 2.0 (1.7-2.4) in Niakhar. In this age group, there was a significant interaction between the effects of the study area and the occurrence of chloroquine resistance ($P = 0.04$). Differences in malaria mortality between the three study areas were reduced by the emergence of chloroquine resistance. Before resistance, the risk of malaria death was 8.3 (2.0-34.1) times higher in Bandafassi than in Mlomp, and 12.3 (3.0-49.6) times

higher in Niakhar than in Mlomp. After the emergence of chloroquine resistance, the risk of malaria death was only 2.3 (1.4-3.9) times higher in Bandafassi than in Mlomp, and 2.8 (1.8-4.4) times higher in Niakhar than in Mlomp.

4. Discussion

Our findings show that since the beginning of the 1990s, malaria mortality in three areas of Senegal has increased considerably. In Mlomp, it was 11 times higher in children of 0-4 years during 1993-1995 than during 1985-1989. In Bandafassi, mortality attributed to malaria has increased by a factor of 2.5 during the period 1993-1995 compared to its average value for the previous 9 years. Finally, in Niakhar, mortality attributed to malaria in children of 0-4 years and 5-9 years was 2.3 times and 2.7 times higher during 1992-1995 than during 1988-1991, respectively.

In most rural areas of tropical Africa, health services are few and badly equipped. Since most deaths occur at home, verbal autopsy is generally the only possible source of information available to determine the cause of death. Therefore, almost all data, old or recent, on malaria mortality in rural populations in Africa were based on studies which have used the verbal autopsy technique. However, verbal autopsy is difficult to standardise and to validate, and the estimation - necessarily indirect - of its sensitivity and specificity is problematic [24]. In our study, it is unlikely that another specific disease - confused with malaria - could have been the cause of the recent dramatic increase in deaths attributed to malaria among the three study populations. In Niakhar, most deaths attributed to malaria presented with high fever, generalised convul-

sions and/or coma, and these clinical patterns were closely associated with the very short annual peak in malaria transmission at the end of the rainy season. In Mlomp, where the increase in malaria mortality has been the largest, very accurate medical data were available for almost all deaths attributed to malaria and also for most of those which had been attributed a different cause of death.

Several hypotheses can be considered to explain the increase in malaria mortality: a) a change in the level of malaria endemicity due to climatic and/or other environmental factors; b) a change in the incidence of non-malaria diseases that would affect malaria mortality; c) a reduction in recourse to health care; d) a reduced effectiveness in curative and/or preventive treatment. None of the first three hypotheses seem to explain our observations. No obvious change in the natural environment of the three study areas occurred between 1984 and 1995. In particular, there were no abrupt changes in the environment because of development projects, for example, or for other reasons. Neither can the drought, which has affected Sub-Saharan West Africa since 1969, nor the fluctuations in rainfall during the study period, explain the increase in malaria mortality. In Mlomp and Bandafassi, where rainfall is high, the average rainfall was similar before and after the increase in malaria mortality. In Niakhar, malaria mortality was much higher from 1992 onwards than in previous records during years of high rainfall. Changes in health care and variations in the incidence of diseases other than malaria also does not seem to explain the increase in malaria mortality. In Niakhar and Bandafassi, practically none of the children or their mother had been vaccinated before 1987, which explains the high mortality due to measles, whooping cough and neonatal tetanus which had then been observed. During specific years, many children were killed by cholera epidemics. In 1990, young boys from Mlomp spent several weeks in the forest without their mothers to take part in a traditional circumcision ceremony and many deaths due to diarrhoea occurred. Variations in the incidence of various diseases clearly influenced the relative part of malaria mortality, but they do not explain the recent dramatic increase in the level of malaria deaths. The sustained improvement of health care in Niakhar and Bandafassi originally meant a decrease in child mortality and then its stabilisation when malaria mortality increased. In the case of Mlomp, chemoprophylaxis was only discouraged after 1994 when it had become obvious that it failed to prevent a strong increase in malaria mortality.

In each of the study areas, the increase in malaria mortality corresponded to the emergence of chloroquine resistance. This emergence was particularly abrupt in Mlomp because of high drug pressure. In the cases of Niakhar and Bandafassi, increase in chloroquine resistance was slower and levels reached in 1995 were still relatively low compared to other areas in Africa. The gravity of the impact of mild levels of resistance suggested by our find-

ings opposes the general impression that chloroquine remains globally effective for malaria treatment in Africa. Our study is the first to measure malaria mortality at the community level before and after the emergence of chloroquine resistance. We believe that the real impact of chloroquine resistance in Africa could have been hindered by the low proportion of malaria attacks that are potentially lethal in young children frequently reinfected. In the case of Mlomp, in spite of an 11-fold increase in malaria mortality in children under 5, only one malaria attack in five hundred is currently fatal in this age group.

The comparison of the three study areas confirms that the level of malaria transmission is not an important determinant of the global level of malaria mortality in the majority of epidemiological contexts observed in tropical Africa [4, 25, 26]. It is in Niakhar that malaria mortality was highest despite an entomological inoculation rate 20 to 65 times lower than in Bandafassi. In Mlomp, the widespread use of chloroquine almost totally suppressed malaria mortality in the 1980s despite a high incidence of clinical attacks [10, 20]. Similar observations were made in Congo and Kenya [25, 27, 28] and this was also probably the case in numerous other regions of tropical Africa where fever and related symptoms are almost systematically self-treated by chloroquine.

In Senegal, as in almost all African countries, there is no national data on causes of death. However, information which allows us to estimate the levels and trends of total (all causes) child mortality is available at the national level from surveys and censuses [29]. These data indicated that Senegal has undergone a continuous decrease in child mortality since World War II. From approximately 400 per thousand, the risk that a new born child die before the age of 5 declined to 287, 236, 191 and 131 per thousand during the periods 1971–1975, 1976–1980, 1981–1986 and 1988–1992, respectively [29]. In contrast, the most recent survey (Demographic and Health Survey, DHS-III) indicated that child mortality was 139 per thousand during the period from March 1992 to March 1997 [30]. The change in the national trend is concomitant with the increase in malaria mortality observed in our studies, an indication that the recent stop in the decrease of child mortality in Senegal could be related to malaria.

5. Conclusion

Clearly, our observations in Senegal suggest that the impact of chloroquine resistance on malaria mortality in Africa is much higher than previously believed. The possible alternatives to chloroquine are few, difficult to implement and their efficacy is all the more uncertain for the medium and long term as very little research has been conducted to prevent the worsening of the situation. Redefining the therapeutic strategies, as in the example of Malawi [31], and improving health care seem nevertheless the only current possible way of reducing malaria

mortality [32]. A broad international initiative should urgently be set up to help African countries carry out

research to help define and then accompany new drug policies.

Acknowledgements We are grateful to Sœur Jeanne-Marie, Sœur Marie-Joëlle, Adama Sow, Paul Senghor, Michel Garenne, Pierre Cantrelle, Olivier Fontaine, Adama Marra, Aldiouma Diallo, Ernest Faye, Michel Ndiaye, Cheikh Sokhna, Papa Ndiaye, and all the nurses, physicians, technicians, field workers and villagers who participated or assisted in the collection of data. We thank Christophe Rogier for statistical assistance, Sam-ba [19] and Luiz Pereira da Silva for support and encouragement, and Vincent Robert for valuable comments and suggestions. This work was supported by grants from the Ministère de la Coopération, the Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération, the Institut national d'études démographiques, the Centre national de la recherche scientifique, the Muséum national d'histoire naturelle, the Institut national de la santé et de la recherche médicale and Pasteur Mérieux Sérums et Vaccins, France

6. References

- [1] WHO. World malaria situation in 1993. La situation du paludisme dans le monde en 1993, Weekly Epidemic Rec. (1996) 17–22.
- [2] Foster S.D., Pricing, distribution and use of anti-malarials drugs, Bull. World Health Org. 69 (1991) 349–363.
- [3] Charmot G., Amat-Roze J.M., Rodhain F., LeBras J., Coulaud J.P., Abondé démographique de l'épidémiologie de la chloroquine-résistance de *Plasmodium falciparum* en Afrique tropicale, Ann. Soc. Belge Med. Trop 71 (1992) 187–197.
- [4] Snow R.W., Marsh K., Will reducing *Plasmodium falciparum* transmission alter malaria mortality among African children?, Parasitol Today 11 (1996) 188–190.
- [5] Khoromana C.O., Campbell C.C., Wirima J.J., Heyman D.L., In vivo efficacy of chloroquine treatment for *Plasmodium falciparum* in Malawi in children under five years of age, Am. J. Trop. Med. Hyg 35 (1986) 465–471.
- [6] Greenberg A.E., Ntumbanzondo M., Ntula N., Mawa L., Howell J., Davison F., Hospital-based surveillance of malaria-related paediatric morbidity and mortality in Kinshasa, Zaire, Bull. World Health Org. 67 (1989) 189–196.
- [7] Carme B., Yombi B., Bouquety J.C., Plassard H., Nzinguoula S., Senga J., Akanani I., Child morbidity and mortality due to cerebral malaria in Brazzaville, Congo. A retrospective and prospective hospital-based study 1983–1989, Trop. Med. Parasitol. 43 (1992) 173–176.
- [8] Cantrelle P., Étude démographique dans la région du Sine-Saloum (Sénégal): État civil et observations démographiques, 1963–1965, Orstom, Paris, 1969.
- [9] Pison G., Langaney A., The level and age pattern of mortality in Bandarassi (Eastern Senegal): results from a small scale and intensive multi-round survey, Pop. Studies 39 (1985) 387–405.
- [10] Pison G., Trape J.F., Lefebvre M., Enel C., Rapid decline in child mortality in a rural area of Senegal, Int. J. Epidemiol. 22 (1993) 72–80.
- [11] Pison G., Desgrées du Lou A., Langaney A., Bandafassi: a 25-year prospective community study in rural Senegal (1970–1995), in Das Gupta M., Aaby P., Garenne M. (eds.), Prospective Community Studies in Developing Countries, Clarendon Press, Oxford, 1998, pp. 253–275.
- [12] Desgrées du Lou A., Pison G., Barriers to universal child immunization in rural Senegal, five years after the accelerated Expanded Program for Immunization, Bull. World Health Org. 72 (1994) 751–759.
- [13] Larivière M., Hocquet P., Abonnenc E., Résultats d'une enquête palustre dans la République du Sénégal. Indices plasmodiques chez les enfants en milieu rural, Bull. Soc. Med. Afr. Noire Lgue Frise 6 (1961) 386–402.
- [14] Marra A., Delaunay V., Simondon F., Population et santé à Niakhar. Mise à jour des principaux indicateurs démographiques, période 1984–1994, Orstom, Dakar, 1995.
- [15] Garenne M., Leroy O., Beau J.P., Sene I., Child mortality after high-titre measles vaccines. prospective study in Senegal, Lancet 338 (1991) 903–907.
- [16] Samb B., Aaby P., Whittle H., Coll Seck A.M., Simondon F., Protective efficacy of high-titre measles vaccines administered from the age of five months: a community study in rural Senegal, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 67 (1994) 697–701.
- [17] Preziosi M.P., Yam A., Ndiaye M., Simaga A., Simondon F., Wassilak S., Practical experiences in obtaining informed consent for a vaccine trial in rural Africa, N. Engl. J. Med. 336 (1997) 370–373.
- [18] Simondon F., Preziosi M.P., Yam A., Toure Kane C., Chabirand L., Ite-man I., Sanden G., Mboup S., Hoffenbach A., Knudsen K., Guiso N., Wassilak S., Cadoz M., A randomized double-blind trial comparing a two-component acellular to a whole-cell pertussis vaccine in Senegal, Vaccine 15 (1997) 1606–1612.
- [19] Robert V., Dieng H., Lochouart L., Traoré S.F., Trape J.F., Simondon F., Fontenille D., La transmission du paludisme dans la zone de Niakhar, Sénégal, Trop. Med. Publ. Health 3 (1998) (in press).
- [20] Sokhna C., Molez J.F., Ndiaye P., Sané B., Trape J.F., Tests in vivo de chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine au Sénégal: évolution de la résistance et estimation de l'efficacité thérapeutique, Bull. Soc. Path. Ex. 90 (1997) 83–89.
- [21] Garenne M., Fontaine O., Assessing probable causes of death using a standardized questionnaire: a study in rural Senegal, Seminar on comparative studies of mortality and morbidity: old and new approaches to measurement and analysis, International Union for the Scientific Study of Population and the Institute of Statistics, University of Siena, 1986.
- [22] Trape J.F., Legros F., Ndiaye P., Konate L., Bah I.B., Diallo S., Verdier F., Hatin I., Le Bras J., Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg 83 (1989) 761.
- [23] Trape J.F., Legros F., Konate L., Verdier F., Vassal J., À propos d'un cas de paludisme résistant à la chloroquine au Sénégal, Bull. Soc. Path. Ex. 83 (1990) 669–670.
- [24] Snow R.W., Armstrong J.R.M., Forster D., Winstanley M.T., Marsh V.M., Newton C.R.J.C., Waruri C., Mwangi I., Winstanley P.A., Marsk K., Childhood deaths in Africa: uses and limitations of verbal autopsies, Lancet 340 (1992) 351–355.
- [25] Trape J.F., Quinet M.C., Nzinguoula S., Senga P., Tchichelle F., Carme B., Candito D., Mayanda H., Zoulani A., Malaria and urbanization in Central Africa: the example of Brazzaville. V. Pernicious attacks and mortality, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 81 (Suppl. 2) (1987) 34–42.
- [26] Trape J.F., Rogier C., Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission, Parasitol. Today 12 (1996) 236–240.
- [27] Carme B., Low malaria mortality among children and high rates of *Plasmodium falciparum* inoculation: a Congolese reality in the 1980s, Parasitol. Today 12 (1996) 206–208.
- [28] Spencer H.C., Kaseje D., Mosley H., Sempebwa E., Huang A., Roberts J., Impact on mortality and fertility of a community-based malaria control programme in Saradidi, Kenya, Ann. Trop. Med. Parasitol. 81 (Suppl. 1) (1987) 36–45.
- [29] Pison G., Hill K., Cohen B., Foote K., Population Dynamics of Senegal, National Academy Press, Washington, DC, 1995.
- [30] Ministère de l'Économie, des Finances et du Plan, Enquête démographique et de santé au Sénégal 1997 (EDS-III), rapport préliminaire, Direction de la prévision et de la statistique et Demography and Health Surveys, Macro International Inc., Dakar, 1997.
- [31] Bioland P.B., Lackritz E.M., Kazembe P.N., Were J.B.O., Steketee R., Campbell C.C., Beyond chloroquine. implications of drug resistance for evaluating malaria therapy efficacy and treatment policy in Africa, J. Inf. Dis 167 (1993) 932–937.
- [32] Trape J.F., Which strategy for malaria control in Africa?, Parasitol. Today 13 (1997) 125–126.

LES RELATIONS ENTRE LE GÈNE DE LA DREPANOCYTOSE ET L'INFECTION PALUSTRE EN AFRIQUE INTERTROPICALE (CONGO, BURKINA FASO ET NIGER)

J.F. MOLEZ *

RESUME

L'association du gène de l'hémoglobine anormale S (drépanocytose), et du paludisme à *Plasmodium falciparum*, est devenue depuis plus de 25 ans l'exemple classique de la sélection naturelle chez l'homme, et l'illustration du concept de polymorphisme équilibré. En effet, un tel gène déterminant à l'état homozygote une affection peu compatible avec la vie adulte, devrait disparaître au fil des générations. Il n'en est rien et certains auteurs ont proposé pour expliquer son maintien, un avantage sélectif des hétérozygotes AS, vis à vis du paludisme.

Dans les différents faciès étudiés : forêt dense, forêt secondaire dégradée, savane arborée, zone sub-sahélienne, successivement en Rep. Pop. du Congo, au Burkina Faso et en Rep du Niger, on constate qu'il n'y a pas de différence au sujet de l'infection plasmodiale, chez les enfants en fonction de leur génotype hémoglobinique. On ne retrouve pas de différence entre les sujets A A, et les hétérozygotes AS et AC, de même les homozygotes SS, peuvent être infectés comme les autres enfants. En effet ni la prévalence, ni les charges parasitaires à *P. falciparum*, ne sont apparues significativement différentes.

D'autre part, la diversité des manifestations cliniques de la drépanocytose faisant soupçonner un polymorphisme hémoglobinique sous jacent, confirme que les relations paludisme-drépanocytose ne sont pas simples, et que d'autres facteurs hémoglobiniques doivent intervenir pour expliquer le maintien du gène S. C'est ainsi que l'on a constaté un pourcentage élevé d'hémoglobine Bart décelée à la naissance dans les populations africaines. Différentes enquêtes réalisées sur ce continent mettent en évidence une fréquence extrêmement élevée d'une anomalie de l'hémoglobine, l'alpha-thalassémie mineure. Ainsi l'interaction de ces deux anomalies de l'hémoglobine (Hb S, et alpha-Thal.), pourrait expliquer le maintien des hétérozygotes AS dans les populations en Afrique Noire, avec ou sans le paludisme.

SUMMARY

The association of the Hb S gene (sickle cell anemia) and falciparum malaria, has become the classical example of natural selection in man and the illustration of the concept of balanced polymorphism. ORSTOM research project on the epidemiology of malaria, provided an opportunity to study the relationship of sickle cell trait to malaria in Equatorial and in West Africa. The relationship between Hb S and *Plasmodium falciparum* was studied in different epidemiological facies, in area where malaria is hyperendemic (forest facies : Congo), area with low level malaria, with increased transmission during rain season (sudanese facies : south Burkina Faso), and area with interrupted transmission during the dry season (savanna facies : north Burkina Faso, and south west Niger).

The observations on differences in parasite rates (plasmodic index) in these different countries of Africa with haemoglobin composition of the population (AA, AS, SS and AC) were done. The selective advantage of heterozygotes has not been found, no obvious protective effect can be attributed to Hb S gene. There is no difference statistically significant in incidence of plasmodial infection in the two groups AA and AS, in the studies of the relationship between malaria and the sickle cell trait. Perhaps the selective advantage necessary for the persistence of the S gene can be explained by the extraordinary heterogeneity of haemoglobin genotype in the African populations.

The recent evidence for the multiple independent origins of the Hb S gene in Africa, may have implications for a better understanding of the variable nature of the expression of sickle cell anemia. The variability in SS disease observed in Africa includes also alpha-thalassemia and the persistence of Hb F haemoglobin (F sardinia). Recent studies have shown that alpha-thalassemia modifies considerably the phenotype of sickle cell anemia, diminishing the gravity of the clinical and biological syndrome. The role of the association in the expression and course of sickle cell trait might be more complex than hitherto thought. The alpha gene deletion is very frequent, the high level Bart's haemoglobin (incidence at birth), reveals the importance of alpha-thalassemia in Equatorial area (where malaria is hyper-endemic), that is among the highest in Africa.

Perhaps the concomitant occurrence of high frequencies of alpha-thalassemia and Hb S is not a coincidence, and this fact propose a reappraisal of the problem of their persistence in Africa. The interaction between these two genes, and their coexistence in the same population, needs to be considered with or without the active presence of falciparum malaria.

* Chercheur de l'ORSTOM, Laboratoire de Paludologie, b.p. 1386 Dakar, Sénégal

L'association du gène de l'hémoglobine anormale Hb S (drépanocytose), et du paludisme à *Plasmodium falciparum*, est devenue depuis plus de 25 ans, l'exemple classique de la sélection naturelle chez l'homme, et l'illustration du concept de polymorphisme équilibré, un tel gène déterminant à l'état homozygote une affection peu compatible avec la vie adulte, devrait disparaître au fil des générations. Cependant il n'en est rien, et on a proposé pour expliquer son maintien un avantage sélectif des hétérozygotes AS vis à vis du paludisme

1. RÉPARTITION DES GENOTYPES HÉMOGLOBINIQUES

1.1. Répartition géographique des enquêtes

Des études sur les relations entre la drépanocytose (électrophorèses d'hémoglobine) et le paludisme (prévalence et charge parasitaire), ont été conduites dans différentes zones géographiques et bio-climatiques du continent africain depuis la zone intertropicale, jusqu' en zone sub-saharienne. Ces enquêtes faisaient parti d'un vaste programme ORSTOM sur l'étude «des paludismes» en Afrique Noire (Carnevale *et al.*, 1982; Carnevale *et al.*, 1985b). Les études ont tout d'abord été commencées en Rep.Pop. du Congo, pour se terminer en Afrique de l'ouest ensuite, et selon les localités, les différents biotopes qui ont été étudiés sont (carte Fig. 1) :

—> en Rep. Pop. du Congo : la forêt secondaire, forêt dégradée et la mosaïque forêt/savane,

—> au Burkina Faso et en Rep. du Niger : la savane arborée et la zone sub-saharienne.

1.2. Répartition des génotypes hémoglobiniques

La distribution des différents génotypes hémoglobiniques (Tableaux 1 et 2) entre l'Afrique centrale et l'Afrique de l'ouest est différente (Carnevale *et al.*, 1981; Devoucoux *et al.*, 1983; Devoucoux *et al.*, 1991), en particulier en ce qui concerne l'HbC qui a son épïcentre sur le plateau voltaïque (carte Fig. 2). On a retrouvé en typage

d'hémoglobine de l'Hb A et Hb S, et l'Hb F persistante chez l'adulte est surtout fréquente en Afrique équatoriale.

TABLEAU 1.: FREQUENCE DES GENOTYPES HEMOGLOBINIQUES en Afrique équatoriale : République populaire du Congo

GENOTYPE (%)	AA	AS	SS	Effectif
Brazzaville	74,7	24,2	1,1	740
Linzolo	78	21,5	0,5	943
Djoumouna	78,5	21,5	0	218
Kinkala	83,5	16,5	0	436
P.K. Rouge	80,7	19,9	0	165
Maya	66	32,9	1,1	267
Makoua	75,7	24,3	0	189
Dimonika	77,8	22	0,16	600

(Données d'enquêtes in : Carnevale *et al.*, 1981 ; Carnevale *et al.*, 1982 ;

Michel *et al.*, 1981 ; Brandicourt *et al.*, 1982 ; et Richard *et al.*, 1984)

Figure 1 Situation Géographique des pays étudiés

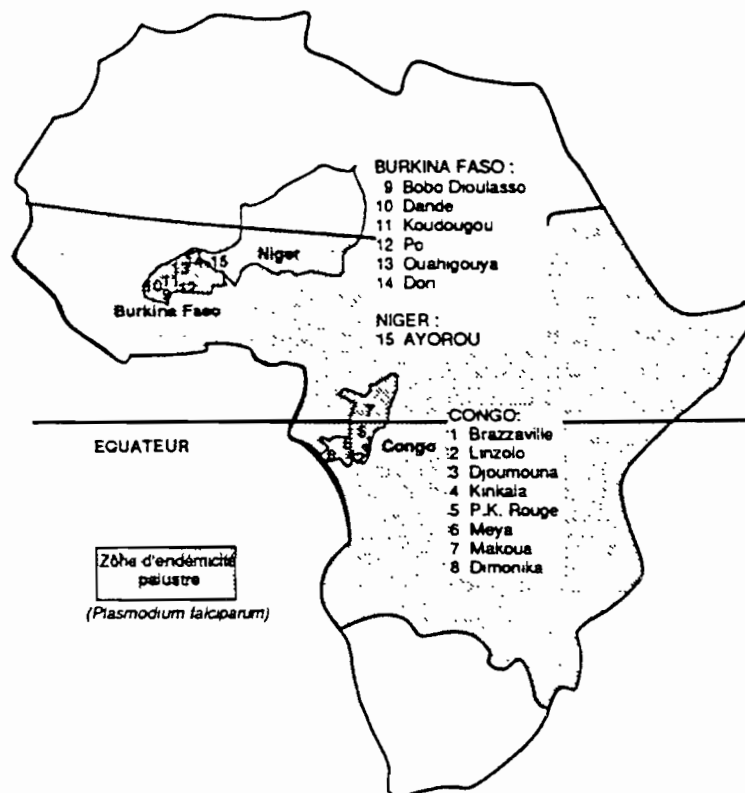


TABLEAU 2 : FREQUENCE DES GENOTYPES HEMOGLOBINIQUES en Afrique occidentale : Burkina Faso et République du Niger

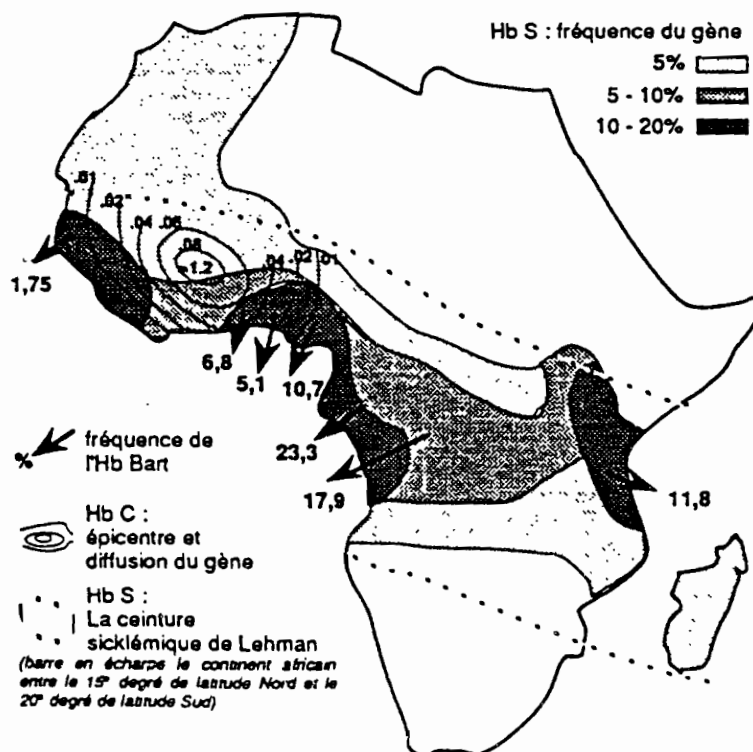
GENOTYPE (%)	AA	AS	AC	SS	SC	CC	Effectif
Bobo-Dioulasso	73	8,1	16,4	0,1	0,9	1,5	1315
Dandé	69,8	10,4	17	0	0,6	2,2	547
Koudougou	71,5	3,7	21,3	0,2	1,3	2	197
Po	70,5	6	20,5	0	1	2	102
Ouahigouya	74,8	4,8	17,4	0	1,5	1,5	190
Dori	81,1	7,6	9,8	0	1,1	1,1	275
Ayorou	76,3	13,2	8,9	0,4	0,2	0,2	374

(Données d'enquêtes in : Devoucoux *et al.*, 1983 ; et Devoucoux *et al.*, 1991)

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le typage des hémoglobines en électrophorèse a été réalisé, au Centre ORSTOM de Brazzaville en Rep. Pop. du Congo, et dans les Laboratoires du Centre Muraz (ORSTOM-OCCGE) au Burkina Faso. Pour le sang de cordon et la recherche d'hémoglobine Bart, à Brazzaville les prélèvements provenaient de la maternité du dispensaire de Linzolo, et à Bobo-Dioulasso de la maternité de l'Hôpital Général.

Figure 2 : Répartition géographique de la drépanocytose et de l'alpha-thalassémie mineure sur le continent africain



Toutes ces enquêtes effectuées sur le terrain (villages de forêt, ou de savane), ont concerné essentiellement des enfants de 6 à 15 ans (sauf pour le Congo en zone urbaine de Brazzaville, pour la tranche d'âge 2-6 ans avec le concours du Service de Pédiatrie de l'Hôpital Général). Les examens parasitologiques en microscopie pour la recherche des hématozoaires du paludisme (*P. falciparum* ou autre espèce plasmodiale) ont été effectués sur frottis de sang, colorés au Giemsa, dans les laboratoires de l'ORSTOM en Rep. Pop. du Congo, et dans les Laboratoires du Centre Muraz (ORSTOM-OCCGE) au Burkina Faso. La méthode de recherche des hématozoaires pour la prévalence plasmodiale et les charges parasitaires, effectuée sur lecture de frottis, ne permet de détecter que les parasitémies supérieures à 200 parasites par mm³.

3. INFECTION PALUSTRE ET GÉNOTYPE HÉMOGLOBINIQUE

3.1 Biotope et niveau de transmission palustre

L'intensité de la transmission palustre est très différente, dans les différents faciès étudiés lors de ces enquêtes :

3.1.1 En Afrique centrale

En zone de forêt dense (localités de Dimonika et de Makoua), il s'agit toujours de forêt anthropisée (forêt primaire dégradée, ou forêt secondaire). Le niveau de transmission dans ce biotope est peu élevé, mais il est caractérisé par sa constance tout au long des douze mois de l'année (Lallemant *et al.*, 1982; Richard, *et al.*, 1984).

En zone de forêt secondaire dégradée (Brazzaville, et localités de Linzolo, Djoumouna et de Kinkala), la transmission palustre est importante toute l'année. Sur le plan épidémiologique le niveau est sursaturant à Linzolo et Djoumouna, sans variations saisonnières notables (Carnevale, 1979; Carnevale *et al.*, 1980).

En zone de mosaïque forêt/savane (localités de P.K. Rouge et de Meya), dans ce biotope, le niveau de transmission est assez élevé toute l'année avec une variation saisonnière qui est un fléchissement de la transmission en période de saison sèche (Brandicourt, 1982; Carnevale *et al.*, 1985a).

3.1.2 En Afrique occidentale

En zone de Savane arborée (Bobo-Dioulasso, et localités de Koudougou Dandé et Po), il existe une transmission du paludisme toute l'année, mais avec d'importantes variations saisonnières, avec un niveau de transmission maximum en saison des pluies, et un minimum en saison sèche (Baudon *et al.*, 1983; Robert *et al.*, 1985; Gazin, 1990).

En zone sub-sahélienne (localités de Ouahigouya, Dori et Ayorou), la transmission du paludisme est essentiellement saisonnière, elle est interrompue pendant la saison sèche, et réapparaît avec les pluies (Carnevale *et al.*, 1985b).

3.2. Infection plasmodiale et génotype hémoglobinique

TABLEAU 3.: DISTRIBUTION DES GENOTYPES CHEZ LES SUJETS IMPALUDES en-quêtes en Afrique occidentale : Burkina Faso et Niger

IMPALUDATION et GENOTYPE (%)	AA	AS	AC	SS	CC	Effectif
Dandé	61,5	57,5	69,5	0	0	333
Ayorou	30,2	27,4	31,5	0	0	460

(* *P. falciparum* largement majoritaire, *P. malariae* 2 à 4%, et *P. ovale* 0 à 0,5%)

(Données d'enquêtes in : Devoucoux *et al.*, 1983; Baudon *et al.*, 1983; Gazin 1990; et Robert *et al.*, 1985)

TABLEAU 4.: DISTRIBUTION DES GENOTYPES CHEZ LES SUJETS IMPALUDES* en-quête en Afrique équatoriale : Congo

IMPALUDATION et GENOTYPE (%)	AA	AS	SS	Effectif
Dimonika	31,8	28,2	0	1885
Kinkala	24,2	15,3	0	436

(* *P. falciparum* largement majoritaire, *P. malariae* 9 à 2 %, et *P. ovale* 2,5 à 2%)

(Données d'enquêtes in : Lallemand *et al.*, 1982; Carnevale *et al.*, 1982; et Richard *et al.*, 1984)

TABLEAU 5 : DENSITES PARASITAIRES* ET GENOTYPE HEMOGLOBINIQUE enquête à Brazzaville (Service de Pédiatrie) : Congo

SUJETS PARASITES :	GENOTYPE HEMOGLOBINIQUE :			Total
	AA	AS	SS	
Parasitémie sanguine observé	81	18	5	104
densité + (calculé)	(82,233)	(18,865)	(2,902)	
observé	46	11	1	58
densité ++ (calculé)	(45,86)	(10,521)	(1,619)	
observé	43	10	0	53
densité +++ (calculé)	(41,907)	(9,614)	(1,479)	
EFFECTIF :	170	39	6	215

χ^2 égal à 3,356 / il est inférieur à 9,488 (seuil à 95 %), le test n'est pas significatif

(* *P. falciparum* largement majoritaire, *P. malariae* 9 à 2%, et *P. ovale* 2,5 à 2%)

(Données d'enquêtes in : Vaisse *et al.*, 1981)

Quantification des charges parasitaires : + = inférieur à 1000 parasites par mm³ ++ = de 1000 à 10.000 parasites par mm³ +++ = supérieur à 10.000 parasites par mm³

Les tableaux des enquêtes parasitologiques et hématologiques ont fait l'objet d'un poster présenté au Congrès I.N.S.E.R.M. : La Drépanocytose et son Traitement : Le Point en 1985, Pointe à Pitre, 21 - 25 Octobre 1985, Guadeloupe : Carnevale P., Devoucoux R., Molez J.F., Bosseno M.F., Lallemand-Lecoœur S., Lallemand M., Feingold J; et Galacteros F. : Les relations entre le gène de la drépanocytose et l'infection palustre en Afrique (République Populaire du Congo, Burkina Faso et République du Niger).

TABLEAU 6.: DENSITES PARASITAIRES* ET GENOTYPE HEMOGLOBINIQUE enquête au Burkina Faso : village de Dandé

SUJETS PARASITES :	GENOTYPE HEMOGLOBINIQUE :			Total
	AA	AS	SC	
Parasitémie sanguine observé	65	10	19	94
densité + (calculé)	(67,077)	(10,394)	(18,529)	
observé	55	10	17	82
densité ++ (calculé)	(56,769)	(9,067)	(16,163)	
observé	24	3	5	32
densité +++ (calculé)	(22,154)	(3,538)	(6,308)	
EFFECTIF :	144	23	41	208

χ^2 égal à 0,728 / il est inférieur à 9,488 (seuil à 95 %), le test n'est pas significatif

(* *P. falciparum* largement majoritaire, *P. malariae* 2 à 4%, et *P. ovale* 0 à 0,5%)

(Données d'enquêtes in : Robert *et al.*, 1985 ; et Gazin 1990)

Quantification des charges parasitaires : + = inférieur à 1000 parasites par mm³ ++ = de 1000 à 10.000 parasites par mm³ +++ = supérieur à 10.000 parasites par mm³

TABLEAU 7.: DENSITES PARASITAIRES* ET GENOTYPE HEMOGLOBINIQUE en-quête au Niger : village d'Ayorou

SUJETS PARASITES	GENOTYPE HEMOGLOBINIQUE :			Total
	AA	AS	AC	
Parasitémie sanguine observé	54	12	8	74
densité + & ++ (calculé)	(58,449)	(9,116)	(6,435)	
observé	55	5	4	64
densité +++ (calculé)	(50,551)	(7,884)	(5,565)	
EFFECTIF :	109	17	12	138

χ^2 égal à 3,519 / il est inférieur à 5,991 (seuil à 95 %), le test n'est pas significatif

(* *P. falciparum* largement majoritaire, *P. malariae* 2 à 4%, et *P. ovale* 0 à 0,5%)

(Données d'enquêtes in : Baudon *et al.*, 1983 ; et Devoucoux *et al.*, 1983)

Quantification des charges parasitaires : + = inférieur à 1000 parasites par mm³ ++ = de 1000 à 10.000 parasites par mm³ +++ = supérieur à 10.000 parasites par mm³

Au sujet de la prévalence palustre (toutes espèces plasmodiales confondues), au niveau des enquêtes réalisées en Afrique centrale et en Afrique de l'ouest (Tableaux 3 et 4), les résultats montrent qu'il n'existe pas de différence, à propos de l'infection par l'hématozoaire chez les enfants, en fonction du génotype hémoglobinique. Il en est de même pour les charges parasitaires (toutes espèces plasmodiales confondues), dans les différents faciès considérés (Tableaux 5, 6 et 7), on constate qu'il n'y a pas de différence, en ce qui concerne le niveau d'infection plasmodiale chez les enfants (densités parasitaires), en fonction du génotype hémoglobinique (Carnevale *et al.*, 1981; Devoucoux *et al.*, 1983).

3.3. Conclusions sur les enquêtes parasitologiques

A partir de toutes ces enquêtes, aucune différence n'est mise en évidence, entre les sujets homozygotes AA, et les sujets hétérozygotes AS, ou AC. Ceci, non

seulement pour la prévalence plasmodiale, mais aussi quel que soit le paramètre étudié : sexe, âge, ou splénomégalie. En effet ni la prévalence, ni les charges parasitaires à *Plasmodium* ne sont apparues significativement différentes. Ces observations, confirment d'autres enquêtes, réalisées en Rep. Pop. du Congo (Michel *et al.*, 1981; Vaisse *et al.*, 1981). Il faut savoir qu'il est question presque essentiellement de parasitémies à *P. falciparum*, les autres espèces plasmodiales sont présentes en faible pourcentage; ainsi *P. malariae* représente 9 à 2% et *P. ovale* 2,5 à 2% en Rep. Pop. du Congo (Carnevale *et al.*, 1982), et *P. malariae* représente 5 à 1% et *P. ovale* 1 à 0% dans le sud du Burkina faso et au sud de la Rep. du Niger (Baudon *et al.*, 1983; Robert *et al.*, 1985; Gazin, 1990).

Ces enquêtes parasitologiques et hématologiques étendues aux différents faciès épidémiologiques d'Afrique, où sévit le paludisme, nous confirme que les relations entre le paludisme et la drépanocytose ne sont pas aussi simples qu'on l'a dit. Dans toutes ces zones à transmission palustre, il y a similitude de l'infestation plasmodiale chez les sujets porteurs ou non de l'hémoglobine S. Il faut donc supposer que d'autres facteurs hémoglobiniques doivent intervenir pour expliquer le maintien du gène S, en Afrique Noire sub-saharienne, où toutes les populations sont impaludées (tout au moins en zone rurale). En effet la diversité des manifestations cliniques de la drépanocytose fait soupçonner (Galacteros, 1985), l'existence d'un polymorphisme hémoglobinique sous jacent. Certains facteurs peuvent moduler l'expression de la maladie drépanocytaire, en dehors des conditions d'environnement (climat, conditions socio-économiques etc...), en particulier la persistance héréditaire de l'Hb F, d'Hb A2 et l'existence d'une alpha-thalassémie mineure associée avec l'Hb S.

4. LA QUESTION DE L'ALPHA-THALASSÉMIE MINEURE

4.1. Existence de l'alpha-thalassémie mineure en Afrique noire

Il existe deux formes d'alpha-thalassémie, la forme homozygote : l'alpha. Thal-1 (-alpha / -alpha) et la forme hétérozygote : l'alpha. Thal-2 (-alpha / alpha. alpha). La forme homozygote (ou alpha-Thal. mineure), est caractérisée par une microcytose, et par l'augmentation de l'hémoglobine Bart (taux égal ou supérieur à 2%), dépistée à la naissance, dans le sang

de cordon. Dans les populations d'Afrique Noire, il existe une grande variation des fréquences de l'hémoglobine Bart, et il existe une fréquence extrêmement élevée d'une anomalie quantitative de l'hémoglobine : l'alpha-thalassémie mineure (cette présence de tétramères gamma-4, témoigne de l'inactivité à la naissance de un ou de plusieurs gènes alpha).

Ces thalassémies ne sont pas décelables cliniquement, différentes études ont été réalisées en Afrique (Pagnier *et al.*, 1984 a), surtout en zone intertropicale (Baelen *et al.*, 1969; Djembo-Taty *et al.*, 1985; Folyan, 1972), et elles montrent que l'alpha-thalassémie mineure est assez répandue sur ce continent, sur toute la zone géographique comprise entre les tropiques du Capricorne et du Cancer. Pagnier (1983) rapporte que selon les auteurs et les enquêtes, la fréquence l'alpha-thalassémie est de 11,08% en Tanzanie, 17,9% au Zaïre, 6,8% au Togo, 1,75% au Sénégal, et 5,1% et 10,7% au Nigeria, cependant lors de ses enquêtes plus fines, Pagnier (1984b) a trouvé pour l'Afrique occidentale : 20 % au Sénégal et 25 % au Bénin, et pour l'Afrique équatoriale : 25 % en R.C.A. et en Rep. Pop. du Congo.

4.2. Fréquence de l'alpha-thalassémie mineure dans nos enquêtes

Parallèlement aux études sur l'infection palustre, on a recherché la présence d'hémoglobine Bart dans les enquêtes en zone rurale des environs de Brazzaville et de Bobo-Dioulasso. En Rep. Pop. du Congo la fréquence de l'alpha-thalassémie mineure est élevée, à Djoumouna (Lallemant *et al.*, 1986), 23,3 % des nouveaux nés, présentent une teneur en hémoglobine Bart supérieure à 1 % (dans 13,7 % des cas ce taux est élevé, dans 9,6 % il est supérieur à 5 %, et dans 1 à 2 % des cas il est faible). Son association avec un VGM significativement abaissé, permet d'estimer la fréquence des homozygotes alpha-Thal-1 à 7 ou 8 %, et celle des alpha-Thal-2 à près de 40 %. Dans la région de Bobo-Dioulasso, la fréquence de l'alpha-thalassémie mineure, n'est pas négligeable, sur 207 échantillons de sang de cordon étudiés en électrofocalisation (Molez *et al.*, 1986), on a décelé de l'hémoglobine Bart chez 17,6 % des nouveaux nés (dans les 2/3 des cas ce taux est inférieur à 5 %, et dans 6 % des cas il est supérieur à 5 %).

5. LES RELATIONS ENTRE LE PALUDISME ET LES HÉMOGLOBINOPATHIES

5.1. Drépanocytose et paludisme

5.1.1. L'avantage sélectif du drépanocytaire

L'association du gène de l'hémoglobine S anormale (drépanocytose), avec le paludisme est devenue l'exemple classique de la sélection naturelle chez l'homme et l'illustration du concept de polymorphisme équilibré, en effet un tel gène déterminant à l'état homozygote une affection peu compatible avec la vie adulte, devrait disparaître au fil des générations. La drépanocytose se maintenant au sein de ces populations d'Afrique Noire (carte Fig. 2), on a proposé pour expliquer son maintien l'hypothèse d'un avantage sélectif des hétérozygotes AS, vis à vis du paludisme (Allison, 1954; Allison, 1964). Cette idée a été reprise par de nombreux auteurs, car elle était très satisfaisante sur le plan génétique, et parasitologique (Rapert, 1956; Luzzato *et al.*, 1970; Fleming *et al.* 1979; Pasvol, 1980; Cabannes *et al.*, 1984)

Dans les différents faciès étudiés : forêt dense, forêt secondaire dégradée, mosaïque forêt/savane, savane arborée, zone sub-sahélienne, successivement en Rep. Pop. du Congo, au Burkina Faso, et au Niger, on a constaté qu'il n'existait pas de différence au sujet de l'infection plasmodiale chez les enfants, en fonction de leur génotype hémoglobinique. On ne retrouve jamais de différences chez les sujets AA, et les hétérozygotes AS et AC. De même que les homozygotes SS, peuvent être trouvés infectés par *Plasmodium falciparum*. Ainsi, les sujets AS, peuvent faire des accès pernicieux (Tchokoteu, 1973; Molez *et al.*, 1982), comme tous les autres enfants d'Afrique Noire. Sur 41 cas de neuropaludisme traités à l'Hôpital de Brazzaville en deux ans (Vaisse, *comm. pers.*), 12,5 % sont des sujets AS. Si le pourcentage de ces hétérozygotes parmi les sujets présentant un accès pernicieux est inférieur au pourcentage observé dans la population non sélectionnée (18 à 22 %), la différence ne constitue pas un avantage suffisant pour expliquer le maintien du trait drépanocytaire (Carnevale *et al.*, 1982; Carnevale *et al.*, 1984). Ainsi, dans toutes nos enquêtes, ni la prévalence, ni les charges parasitaires à *Plasmodium falciparum*, ne sont apparues significativement différentes (Carnevale *et al.*, 1981; Devoucoux *et al.*, 1983).

5.1.2. Multiplicité des anomalies en hématologie-génétique

La mutation drépanocytaire est parfaitement définie, mais sa très grande dispersion (Afrique Noire, Afrique du Nord, péninsule Arabique, Inde), pose le problème de son origine unique ou multiple. Cependant la fréquence maximum de l'Hb S, se rencontre en Afrique Noire sub-sahélienne (voir carte, Fig. 2). Sur le plan évolutif, on a longtemps cru qu'un événement mutationnel unique était à l'origine du gène de la drépanocytose : «Les interprétations quant à l'origine de la mutation reposaient essentiellement sur des données ethnologiques et anthropologiques» (Pagnier, 1984a).

Actuellement, l'origine multicentrique du gène Hb S sur le continent africain, est de moins en moins contestée, des études récentes montrent que la mutation de la drépanocytose est survenue plusieurs fois. Il y aurait une triple origine de la mutation bêta S, qui nous donne trois types différents de drépanocytoses : un type «béninois», un type «sénégalais» (Nagel *et al.*, 1985), et un type «centrafricain» (Pagnier *et al.*, 1984c). Pagnier a mis en évidence ces trois haplotypes, en étudiant 82 à 100 % des chromosomes dans différentes régions d'Afrique Noire, mettant en évidence trois environnements différents du gène bêta S. Aux trois types génétiques d'environnement du gène drépanocytaire, correspondent deux formes hématologiques distinctes. Une corrélation a été recherchée (Streinberg *et al.*, 1975; Pagnier *et al.*, 1984a; Pagnier, 1985; Beuzard, 1985), entre les variations du génotype de la maladie drépanocytaire avec la persistance de l'hémoglobine foetale d'une part, et avec la présence d'une alpha-thalassémie mineure associée d'autre part.

D'autre part, l'expression qualitative et quantitative de l'Hb F serait liée à l'haplotype, les gènes responsables de la synthèse de cette hémoglobine sont transmis en même temps que la mutation beta S. La persistance héréditaire de l'Hb F, est retrouvée à des taux très variables chez l'hétérozygote AS, comme chez l'homozygote SS. Il faut savoir que les globules rouges qui contiennent cette hémoglobine F, ont une survie préférentielle, la falciformation est retardée (inhibition de la polymérisation), et on observe moins de phénomènes d'adhérence sur l'endothélium. Cependant, en Afrique Noire, en plus de sa triple origine

(triple mutation), la drépanocytose n'est pas une, et comme le dit Beuzard (1985) : «Les associations de deux, parfois même de plus de deux anomalies génétiques différentes, constituent le cas le plus fréquent d'un syndrome drépanocytaire majeur. ...La forme homozygote SS, est d'une grande diversité clinique. L'origine de cette diversité est encore bien souvent inconnue.»

5.2. Alpha-thalassémie mineure, Hémoglobine S et paludisme

5.2.1. Alpha-thalassémie et hémoglobine S

En même temps que l'origine multicentrique du gène de la drépanocytose, et la diversité des manifestations cliniques faisant soupçonner un polymorphisme sous-jacent, il faut reposer totalement le concept admis en génétique et en parasitologie, au sujet du maintien du gène S, grâce au paludisme. En Afrique Noire, on trouve un pourcentage élevé d'association alpha-Thal./ Hb S, aussi se pose le problème d'une sélection des porteurs de cette association qui est plus fréquemment rencontrée en Afrique centrale qu'en Afrique de l'ouest (Adelike *et al.*, 1993).

Sur le plan hématologique, l'alpha-thalassémie mineure modifie profondément le phénotype lié à l'hémoglobine S, notamment chez l'homozygote SS (Shaeffer, 1978), l'alpha thalassémie modifie la biologie, et l'évolution clinique de la maladie (Higgs *et al.*, 1982). Selon Lubin (1985), chez le drépanocytaire l'amélioration clinique, et biologique liée à l'alpha-thalassémie permet une survie plus longue, elle consiste chez l'homozygote SS en une microcytose (déformabilité membranaire moindre et meilleure viscosité), et chez l'hétérozygote AS elle permet d'avoir moins de problèmes circulatoires. Beuzard (1985), précise que chez un hétérozygote AS, la présence d'une alpha-thalassémie mineure, diminue fortement la proportion d'hémoglobine S, en diminuant sa concentration intra érythrocytaire. Shaeffer *et al.*, (1978), expliquent l'expression diminuée de l'Hb S chez les drépanocytaires, par la présence d'une alpha-thalassémie («Competition of normal beta chains and sickle beta-S chains, for alpha chains as post-relational control mechanism»). Ainsi les deux facteurs Hb F et alpha-thalassémie modifient les caractéristiques hématologiques du drépanocytaire, il en serait de même pour l'Hémoglobine A2 qui est assez élevée chez les

drépanocytaires, et encore bien plus chez les thalasso-drépanocytaires (Gini *et al.*, 1989).

5.2.2. Alpha-thalassémie et paludisme

C'est Haldane (1949), qui le premier a émis l'hypothèse d'une meilleure protection envers le paludisme chez les sujets thalassémiques, et il faut le remarquer, sans qu'il soit question d'érythrocytes porteurs d'Hb S dans sa communication. Lallemand *et al.*, (1986), se posent la question : «Perhaps the concomitant occurrence of high frequencies of alpha-Thal. and Hb S is not a coincidence. Alpha-Thal. has recently been shown to modify the Hb S homozygous phenotype». Sur le plan parasitologique, il faut savoir que sur modèle animal, les individus possédant une alpha-thalassémie mineure, résistent mieux à l'infection avec l'hématozoaire du paludisme, en présentant des densités parasitaires bien moindres que les sujets normaux (Lapp et Whitney, 1982). Abdalla *et al.*, (1989), soulèvent eux aussi la possibilité d'une protection vis à vis du paludisme conférée par l'alpha-thalassémie.

6. LA QUESTION DU MAINTIEN DES HÉTÉROZYGOTES AS EN AFRIQUE

6.1. Drépanocytose et paludisme

Selon Carnevale (Carnevale *et al.*, 1981) : «...de nombreuses études n'ont pas confirmé l'hypothèse de Allison, ... si l'avantage des sujets AS vis à vis du paludisme n'existe que dans certaines régions, il devient difficile d'expliquer la distribution du gène S en Afrique. Une réévaluation des coefficients de sélection sera nécessaire ainsi que la recherche d'autres facteurs pouvant expliquer le maintien de ce gène.» A propos du Cameroun J. Mouchet (in : Carnevale *et al.*, 1982), considère qu'il n'y a pas superposition de la répartition quantitative du trait drépanocytairé avec le paludisme : «le pourcentage des AS est de 20 % dans le sud forestier du Cameroun, où le paludisme est comparable à celui du Congo (prévalence 40 à 50 %), il est seulement de 8 % dans le pays Bamiléké, où il n'y a pratiquement pas de paludisme. Par contre, il est seulement de 6,5 % dans le nord, région de Maroua, où sévit un paludisme grave, avec une prévalence de 70 à 90%»

6.2. Mosaïque hémoglobinique et paludisme

Plus de cinquante variétés différentes d'hémoglobines ont été découvertes sur le continent africain, et selon Feingold (1985), la carte de répartition géographique de tous ces hétérozygotes, correspondant à toutes ces anomalies de l'hémoglobine, pourrait peut être superposée à la carte de répartition du paludisme en Afrique Noire. Il est intéressant de signaler ici une remarque de Y. Beuzard (1985) : «...l'alpha Thal.1, ne modifie guère d'une manière évidente la sévérité clinique de la drépanocytose homozygote (USA, Jamaïque). Par contre en Afrique où la mortalité des drépanocytaires est beaucoup plus élevée, l'alpha-thalassémie augmente avec l'âge, suggérant son action bénéfique et un avantage sélectif». Pour Pagnier (1985), en étudiant par tranche d'âge le pourcentage de survie des thalassémiques en Afrique Noire (au Bénin en particulier), il semblerait que la combinaison d'une alpha-thalassémie homozygote (alpha-Thal.1), et d'une drépanocytose soit préjudiciable, par contre, l'alpha-thalassémie hétérozygote apporterait un avantage aux drépanocytaires. Il faudrait donc supposer, qu'il existe une survie diminuée chez les sujets à la fois hétérozygotes Hb S et homozygotes alpha-thalassémiques, mais par contre, qu'il existe une survie améliorée pour les doubles hétérozygotes.

L'avantage des hétérozygotes drépanocytaires associant une thalassémie mineure, est difficile à déterminer avec les données dont nous disposons actuellement au niveau des différentes équipes de recherche en Afrique Noire (il faudrait rechercher l'avantage sélectif des hétérozygotes vis à vis du paludisme, en étudiant les gènes de l'hémoglobine dans une zone impaludée non médicalisée!). Comme l'avantage des hétérozygotes drépanocytaires reste nécessaire pour expliquer le maintien du gène S dans la population, et comme la drépanocytose à elle seule ne protège pas de l'infection palustre, on peut envisager que c'est l'interaction entre ces deux anomalies de l'hémoglobine (l'hémoglobine S, et l'alpha-thalassémie mineure), qui pourrait expliquer le maintien des sujets hétérozygotes AS, dans les populations africaines, avec ou sans l'intervention du paludisme.

BIBLIOGRAPHIE

- ABDALLA S.H., CORRAH P.T. and HIGGS D.R., 1989 - a Thalassemia in the Gambia. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, (Short Report), 83 : 420.
- ADELIKE A.D., LIU J.C., SULZER A.J., HUISMAN T.H.J. 1993 - Frequency of the alpha-Thalassemia-2 gene among nigerian SS patients and its influence on malaria antibody titers. *Hemoglobin*, 17, (1): 73-79.
- ALLISON A.C., 1954 - Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *British Med. Journ.*, Feb.6, 1954, (i) : 290-294.
- ALLISON A.C., 1964 - Polymorphism and natural selection in human populations. Cold Spring Harbor Symposium. *Quant. Biol.*, 24 : 137-149.
- BAELEN H. (van), VANDEPITTE J., and EECKELS R., 1969 - Observations on sickle-cell anaemia and haemoglobin Bart's in Congolese neonates. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 49 : 157-164.
- BAUDON D., GAZIN ., REA D., BOUDIN C., OUEDRAOGOL., CARNEVALE P., MOLEZ J.F., LENGANI A. et ROUX J., 1983 - Etude de la morbidité palustre dans une zone de savane arbustive de l'Afrique de l'ouest à paludisme hyperendémique. XXIIIème Conf. Techn. de l'OCCGE, 11-15 avr. 1983, Ouagadougou.
- BRANDICOURT O., 1982 - Contribution à l'étude du paludisme et de sa relation avec la drépanocytose dans la région de Brazzaville (Rep. Pop. du Congo). Thèse Doctorat Médecine, Université de Paris VII.
- BEUZARD Y., 1985 - Génétique des syndromes drépanocytaires majeurs. Comm. Congrès INSERM : La drépanocytose et son traitement, le point en 1985. 21-25 oct. 85, Pointe à Pitre, Guadeloupe.
- CABANNES R. et SANGARE A., 1984 - L'Africain Noir et son hémoglobine. *Gazette Méd.*, 91, (22): 32-39.
- CARNEVALE P., 1979 - Le paludisme dans un village des environs de Brazzaville. Thèse Doctorat Sciences n° 2175, Centre Orsay, Université de Paris Sud.
- CARNEVALE P. et MOUCHET J., 1980 - Le paludisme en zone de transmission continue en région afrotropicale. Comm. Congrès Laveran, Strasbourg, *Cah. ORSTOM, ser. Ent. Med. et Parasitol.*, 18, (2) : 162 - 171.
- CARNEVALE P., BOSSENO M.F., LALLEMANT M., FEINGOLD J., ZOULANI A., MOLINIER M. et MOUCHET J., 1981 - Le paludisme à *Plasmodium falciparum*, et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo, I Relation entre la parasitémie et le trait drépanocytaire à Djoumouna (région de Brazzaville). *Ann. de Génétique*, 24, (2) : 100-104.
- CARNEVALE P., BOSSENO M.F., LALLEMANT M., MOLEZ J.F., MORAUULT B., MOUCHET J., TRAPE J.F., MICHEL R., VAISSE D. et al., 1982 - Le paludisme en milieu rural au Congo. Travaux et Documents de Géographie Tropicale (CEGET-CNRS/ACCT), Table ronde «Tropique et Santé», (4-5-6 octobre 1982), Bordeaux : 109-121.
- CARNEVALE P., BOSSENO M.F., LALLEMANT M., FEINGOLD J., LISSOUBA P., MOLINIER et MOUCHET J., 1984 - Le paludisme à *Plasmodium falciparum* et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. *Ann. Génétique*, 24, 100-104.
- CARNEVALE P., BOSSENO M.F., ZOULANI A., MICHEL R. et MOLEZ J.F., 1985 a - La dynamique de la transmission du paludisme en zone de savane herbeuse et de forêt dégradée, dans les environs de Brazzaville (Rep. Pop. Congo). *Cah. ORSTOM, ser. Ent. Med. et Parasitol.*, 22, (2) : 95 -115.
- CARNEVALE P., ROBERT V., MOLEZ J.F. et BAUDON D., 1985b - Les faciès épidémiologiques du paludisme en Afrique sub-saharienne. Comm. VIIème Congrès Fed. Latino. Am. de Parasitol., oct.85, Guayaquil, Equateur.
- DEVOUCOUX R., HURPIN C., CHAIZE J., BAUDON D., BRANDICOURT O., BOUDIN C., ROUX J. et CARNEVALE P., 1983 - Hémoglobinoses S et C et le paludisme à *Plasmodium falciparum*, en Haute-Volta. XXIIIème Conf. Techn. de l'OCCGE, 11-15 avr. 1983, Ouagadougou.
- DEVOUCOUX R., HURPIN C., BAUDON D., MOLEZ J.F., ROUX J., GUILLOUD-BATAILLE M., CARNEVALE P. and FEINGOLD J., 1991 - Population genetics of abnormal haemoglobins in Burkina Faso, West Africa. *Ann. Human Biology*, 18, (4) : 295-302.

- DJEMBO-TATYM. et TCHILOEMBA M., 1985 - Etude Epidémiologique des Hémoglobinoses au Congo, portant sur 2257 échantillons de sang de cordon. Comm. Congrès INSERM : La drépanocytose et son traitement, le point en 1985. 21-25 oct. 85, Pointe à Pitre, Guadeloupe.
- FEINGOLD J., 1985 - Epidémiologie de la drépanocytose. Comm. Congrès INSERM : La drépanocytose et son traitement, le point en 1985. 21-25 oct. 85, Pointe à Pitre, Guadeloupe.
- FLEMING A.F., STOREY J., MOLINEAUX L., ISOKO E.A. and ATTAI E.D.E., 1979 - Abnormal haemoglobin in the Sudan savanna of Nigeria. I. Prevalence of haemoglobins and relationship between sickle cell trait malaria and survival. *Annals of Trop. Med. and Parasitol.*, 73 : 161-172.
- FOLAYAN (ESAN) G.J., 1972 - Haemoglobin Bart's in newborn Nigerians. *Brit. J. Haematol.*, 22 : 73.
- GALACTEROS F., 1985 - La drépanocytose chez l'adulte. Comm. Congrès INSERM : La drépanocytose et son traitement, le point en 1985. 21-25 oct. 85, Pointe à Pitre, Guadeloupe.
- GAZIN P., 1990 - Le paludisme au Burkina Faso. Etude épidémiologique de la transmission des indices parasitologiques, de la morbidité et de la létalité. Thèse Doctorat Sciences, 1990, Université de Montpellier 1, 248p.
- GINIE.K., KALULAM., MUKUNAK., MANZOMBI M., et KABAKELE K. 1989 - Hémoglobine A2 comme facteur modérateur de la gravité de la drépanocytose. *Méd. Afr. Noire*, 36, (7), 596-598.
- HALDANE J.B.S., 1949 - The rate of mutation of human genes. Proceeding of the VIIIème Internat. Congress of Genetics and Hereditas. Suppl. 35 : 367-373.
- HIGGS D.R., ALDRIDGE B.E., LAMB J., et al., 1982 - The interaction of alpha-thalassemia and homozygote sickle-cell disease. *The New England J. of Med.*, 306, (24) : 1441-1446.
- LALLEMANT M., TRAPE J.F., BRANDICOURT O., CARNEVALE P., MOLEZ J.F., BOSSENO M.F., LALLEMANT-LECOEUR S., RICHARD A. et ZOULANI A., 1982 - Epidémiologie et clinique du paludisme humain en zone forestière. XIVème Conf. Techn. OCEAC, 20-23 avr. 82, Yaoundé, Cameroun.
- LALLEMANT M., GALACTEROS F., LALLEMANT-LECOEUR S., FEINGOLD J., CARNEVALE P., BOUKILA V., MOUCHET J. and ROSA J., 1986 - Hemoglobin abnormalities, an evaluation on newborn infants and their mothers in a maternity unit close to Brazzaville (Rep. Pop. Congo). *Hum. Genet.*, 74 : 54-58.
- LAPP D.F. and WHITNEY B.J., 1982 - Malaria infection in thalassaemic mice. Intern. Congress of Parasitol. ICOPA V, 7-14 aug. 82, Toronto, Canada.
- LUBIN B., 1985 - Drépanocytose : évaluation de la sévérité clinique et facteurs pronostiques. Comm. Congrès INSERM : La drépanocytose et son traitement, le point en 1985. 21-25 oct. 85, Pointe à Pitre, Guadeloupe.
- LUZATTO L., NWACHUKU-JARETT E.S. and REDDY S., 1970 - Increased sickling of parasited erythrocytes as a mechanism of resistance against malaria in the sickle-cell trait. *Lancet*, (i) : 319-321.
- MICHEL R., CARNEVALE P., BOSSENO M.F., MOLEZ J.F., BRANDICOURT O., ZOULANI A. et MICHEL Y., 1981 - Le paludisme à *Plasmodium falciparum*, et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. III Prévalence du trait drépanocytaire, en milieu scolaire dans la région Brazzavilloise. *Med. Trop.*, 41, (4) : 403-411.
- MOLEZ J.F., PEELMAN Ph., MORAULT B., BOSSENO M.F., CARNEVALE P., VAISSE D. et NZINGOULA S., 1982 - Etude séro-immunologique de 19 accès perniciose chez l'enfant Congolais (17 homozygotes AA, et 2 hétérozygotes AS). XIVème Coni. Techn. OCEAC, 20-23 avr. 82, Yaoundé, Cameroun.
- MOLEZ J.F., BOSSENO M.F. et OUEDRAOGO F., 1986 - Paludisme et périnatalité. Rapport Comm. Santé et Dvpt. 356-83 L-1222, nov. 86, Min. Rech. et Techn. Paris.
- NAGEL R.L., FABRY M.E., PAGNIER R.J., ZOHOUN I., WAJCMAN H., BAUDIN V. and LABIE D., 1985 - Hematologically and genetically distinct forms of sickle cell anemia in Africa (The Senegal Type and the Benin Type). *The New England J. of Med.*, 312 (April 4) : 880-884.

- PAGNIER R.J., LABIE D., LACHMAN H.M., DUNDA-BELKHODJA O., KAPTUE-NOCHEL, ZOHOUN I., NAGEL R.L. et MEARS G.J., 1983 - Human globin gene polymorphisms in West and Equatorial Africa. Distribution and evolution of hemoglobin and globin loci. J. E., Bowman Ed., Elsevier Sc. Publish. Co. Inc., New-York: 145-158.
- PAGNIER R.J., 1984 a - Hétérogénéité génotypique et phénotype de la drépanocytose en Afrique. Thèse Doctorat Sciences, Université de Paris VII, Paris.
- PAGNIER R.J., DUNDA-BELKHODJA O., ZOHOUN I., TEYSSIER J., BAYA H., JAEGER G., NAGEL R.L. et LABIE D., 1984 b - Alpha thalassemia among sickle cell anemia patients in various African populations. *Hum. Genet.*, 68 : 318-319.
- PAGNIER R.J., MEARS G.J., DUNDA-BELKHODJA O., SCHAEFFER-REGO K., BELDJORD C., NAGEL R.L. et LABIE D., 1984 c - Evidence for the multicentric origin of the sickle cell haemoglobin gene in Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 81: 1771-1773.
- PAGNIER R.J., 1985 - Polymorphisme du génome gamma, delta, beta et drépanocytose. Comm. Congrès INSERM : La drépanocytose et son traitement, le point en 1985. 21-25 oct. 85, Pointe à Pitre, Guadeloupe.
- PASVOL G., 1980 - The interaction between sickle haemoglobin and the malarial parasite *Plasmodium falciparum*. *Trans. of the Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 74, (6) : 701 - 705.
- RAPERT A.B., 1956 - Sickling in relation to morbidity from malaria and other diseases. *Brit. Med. J.*, (i) : 965-966.
- RICHARD A., MOLEZ J.F., CARNEVALE P., MOUCHET J., LALLEMANT M. et TRAPE J.F., 1984 - Epidemiology and clinics of malaria in village of the Mayombe forest (Rep. Pop. Congo). Comm. XI Internat. Congress for Trop. Med. and Malaria. 16-22 Sept. 84, Calgary, Canada.
- ROBERT V., GAZIN P., BOUDIN C., MOLEZ J.F., OUEDRAOGO V. et CARNEVALE P., 1985 - La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone rizicole des environs de Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso). *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 65, (Suppl.2) : 201-214.
- SHAEFFER J.R., KINGTON R.E., Mc DONALD M.J. and BUNN H.F., 1978 - Competition of normal beta chain, and sickle haemoglobin beta-S chains, for alpha chains, as post-translational control mechanism. *Nature*, 278 : 631.
- STREINBERG M.H., ADAMS J.G., and DREILLING B.J., 1975 - Alpha Thalassemia in adults with sickle cell trait. *Brit. J. Haematol.*, 30 : 31.
- TCHOKOTEU P.F., 1973 - Contribution à l'étude de la drépanocytose dans le centre de la Rep. du Cameroun. Thèse Doctorat Médecine, Université de Nancy, n° 37, 26 févr 73.
- VAISSE D., MICHEL R., CARNEVALE P., BOSSENO M.F., MOLEZ J.F., PEELMAN Ph., LOEMBEM T., NZINGOULA S. et ZOULANI A., 1981 - Le paludisme à *Plasmodium falciparum*, et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. II Manifestations cliniques du paludisme selon la parasitémie et le génotype hémoglobinique. *Med. Trop.*, 41, (4) : 413 - 423.

OCEAC

Organisation de Coordination
pour la lutte contre les Endémies
en Afrique Centrale

XIV^e Conférence Technique

Yaoundé 20 - 23 avril 1982

Secrétariat Général
B. P. 288 - Yaoundé - République Unie du Cameroun
Tél. 23-22-32

Molez J.-F., Peelman Ph., Carnevale P., Bosseno M.-F., Morault B.,
Vaisse D. et Nzingoula S.

Etude clinique et sérologique de 19 accès perniciox chez l'enfant Congolais
(17 homozygotes AA, et 2 hétérozygotes AS).

XIV^{ème} Conf. Techn. de l'O.C.E.A.C. (20-23 avril 1982),
Yaoundé, Cameroun.

Etude clinique et sérologique de 19 accès pernicioeux chez l'enfant Congolais (17 homozygotes AA et 2 hétérozygotes AS)

Molez J.F., Peelman Ph., Carnevale P., Bosseno M.-F.,
Morault B., Vaisse D. et Nzingoula A.

I. PALUDISME ET ACCES PERNICIEUX DU PREMIER AGE A BRAZZAVILLE :

I. 1 IMMUNITE ET PALUDISME DU PREMIER AGE :

En zone d'endémie palustre les réinfections permanentes avec l'hématozoaire *P. falciparum* qui permettent l'acquisition précoce d'une immunité et sa maintenance. Chez le tout jeune enfant, il existe un hiatus immunologique entre la chute des anticorps materno-transmis et la synthèse par le nourrisson de ses propres anticorps. A Brazzaville Carnevale *et al.* (1982), ont montré qu'au cours des premiers mois de la vie du nourrisson, les anticorps materno-transmis diminuent assez rapidement pour atteindre leur niveau minimum entre le 5^{ème} et le 8^{ème} mois. Il existe ainsi un hiatus immunologique (Fig.1) après la chute des anticorps materno-transmis et avant que ne débute la synthèse par le nourrisson de ses propres néoanticorps. Le taux moyen à ce moment est plus de 10 fois moindre que le taux de naissance et 30% de ces enfants entre 5 et 8 mois n'ont pas d'anticorps palustre sérologiquement décelables (Sulzer *et al.*, 1986). Par la suite, entre 3 et 5 ans, le taux des néoanticorps antipalustre va croître chez le jeune enfant, ce développement précoce de la prémunition est en liaison avec la permanence de la transmission (Carnevale, 1979; Cornille-Brogger *et al.*, 1979). L'immunité va s'installer progressivement chez l'enfant et les anticorps vont retrouver vers l'âge de 3 ans le taux que présentait l'enfant à la naissance (Carnevale *et al.*, 1982; Molez *et al.*, 1982).

Ce hiatus immunologique qui a été ainsi observé et décrit ne semble pas permettre une protection satisfaisante vis à vis du neuropaludisme, et Lacan (1957) considère cette phase comme une période de "polymortalité" au cours de laquelle l'enfant est très sensible au paludisme. Il existe également chez le nourrisson un cap à franchir qui est celui du sevrage entre 1,5 an et 2 ans, ce passage survient au moment du hiatus immunologique que nous avons signalé, aussi nous aurons une surmortalité pendant cette période (diarrhées infectieuses, rougeole, coqueluche).

I. 2 LES CRITERES DE L'ACCES PERNICIEUX :

On a considéré que critère biologique du frottis/goutte épaisse négatif au moment de l'admission dans le Service de Pédiatrie ne devait pas obligatoirement faire écarter un diagnostic de neuropaludisme, comme Pene *et al.* (1976), Okouoyo (1981) et Brasseur *et al.* (1983) nous pensons qu'il existe bien des accès pernicioeux sans hématozoaires décelables dans circulation du sang périphérique sur frottis/goutte épaisse. En dehors de la possibilité de séquestration des hématies parasitées dans les capillaires profonds, il faut savoir que l'examen de sang est parfois réalisé avec 6 ou 12 heures de retard, et le personnel hospitalier de garde, a comme premier réflexe devant un tableau clinique de coma fébrile, la mise en route d'une perfusion à visée antipalustre, une parasitémie sanguine périphérique peut être ainsi négativée. Parfois le sujet est adressé par un dispensaire, et ceux-ci tous traitent systématiquement avec des antipaludéens tout enfant en hyperthermie et convulsant, avant de l'orienter vers l'Hôpital Général, une parasitémie sanguine circulante peut être ainsi négativée dans le sang périphérique lors des premiers examens au moment de l'admission en Service de Pédiatrie.

Nous avons retenu pour notre étude que les sujets satisfaisant à des critères cliniques choisis, ce sont ces critères qui vont nous permettre de poser le diagnostic d'accès pernicioeux. Il nous faut deux observations dans le temps pour constituer nos critères vont affirmer pour nous un accès pernicioeux, il s'agit d'un critère clinique à l'admission, c'est une encéphalite aigüe, fébrile à l'entrée ou dans les heures qui suivent, et un critère évolutif lorsque le diagnostic est confirmé par l'évolution clinique et la réponse au traitement antipalustre (Okouoyo, 1981). Le diagnostic différentiel est celui de toute convulsion hyperpyrétique (le critère évolutif intervient surtout ici), aussi on effectue une ponction lombaire chez l'enfant pour éliminer une méningite purulente (le problème des méningites à liquide clair peut être écarté en grande partie avec la biologie et l'évolution). Devant le problème diagnostique de l'accès pernicioeux, nous avons éliminé les convulsions hyperpyrétiques avec parasitémie palustre s'il existait une pathologie associée, en effet nous sommes en zone d'hyperendémicité palustre, et chez un malade une "sortie" d'hématozoaires dans la circulation sanguine périphérique peut apparaître secondairement et accompagner le syndrome déclenchant.

II. MATERIEL ET METHODES :

II. 1 PROTOCOLE D'ETUDE DES ACCES PERNICIEUX :

Les accès pernicieux ont été recrutés pendant le premier semestre de l'année 1980 dans le Service de Pédiatrie de l'Hôpital Général de Brazzaville (Dr Nzingoula et Dr Vaisse). Nous avons retenu que les malades satisfaisant aux critères diagnostiques choisis.

Une série d'exams sont effectués à l'admission :

- > frottis/goutte épaisse et numération-formule sanguine
- > groupe sanguin et électrophorèse de l'hémoglobine
- > protéinogramme, protidémie et ponction lombaire
- > sérologie palustre en immunofluorescence indirecte

II. 2 EXAMENS PARASITOLOGIQUES ET HEMATOLOGIQUES :

Les frottis et les gouttes épaisses et les prises de sang pour sérologie sont effectués à dans le Service de Pédiatrie, par la suite, nous avons essayé dans la mesure de nos possibilités, d'effectuer une prise de sang chaque semaine, pour une étude longitudinale parasitologique et sérologique chez ces accès pernicieux.

Les différents examens biologiques ont tous été effectués effectuées dans les Laboratoires de l'ORSTOM. Les frottis/gouttes-épaisses sont colorées au Giemsa et lues au microscope pour la recherche d'hématozoaires et le calcul des densités parasitaires. Nous avons dosé les protidémies par densitométrie (Proteine-Kit® de Bio-Mérieux™, et lectures au photomètre Jouan™), et les électrophorèses réalisées sur acétate de cellulose (Kit Helena®, lecture sur Gelman™ type DCD 16 et relecture sur ACD 18). Les électrophorèses de l'hémoglobine ont été effectuées sur acétate de cellulose (Kit Helena® et lectures au densitomètre Gelman™).

II. 3 EXAMENS SERO-IMMUNOLOGIQUES :

Concernant l'étude longitudinale de ces 19 accès pernicieux, nous avons réalisé trois types de techniques séro-immunologiques.

--> l'immunodiffusion radiale : pour le dosage des IgG, IgA, IgM (et IgD pour quelques sérums), nous avons utilisé l'Immuno-Kit® Bio-Mérieux™.

--> l'immunoélectrophorèse : elles ont été réalisées sur quelques sérums avec des antisérums spécifiques anti-IgG, anti-IgA et anti-IgM (et pour quelques sérums avec un antisérum complet pour la recherche d'arcs anormaux)

--> l'immunofluorescence indirecte : les lames d'antigènes proviennent d'un placenta humain fortement parasité par *P. falciparum* (Maternité Nguimbi de Baongo/Brazzaville), présentant une parasitémie synchrone (stade trophozoïtes), avec 60% de parasitémie érythrocytaire. Pour cette IFI la dilution de départ est de 1/20ème, on pousse les dilutions jusqu'au 1/3840ème, et la première dilution significative est de 1/240ème (en accord avec les dilutions préconisées par l'OMS/WHO, 1974; et Ambroise-Thomas, 1974). Avec les conjugués Institut-Pasteur Production™, on va étudier les anticorps fluorescents anti-IgG, anti-IgA et anti-IgM (H+L) humaines. La lecture a été réalisée avec un Leitz™ Orthoplan® équipé du Ploemopak® 2.1 (bloc de filtres n°12 code 513-418, filtre d'excitation BP 450-490 type IKP, miroir séparateur RHP 510, et filtre d'arrêt LP 515 type F).

III. ETUDE CLINIQUE DES ACCES PERNICIEUX :

III. 1 SELECTION ET FREQUENCE DES NEUROPALUDISMES :

Nous avons 19 neuropaludismes qui ont été sélectionnés, et nous avons observé à l'admission soit des crises convulsives, soit un coma ou une simple obnubilation. L'âge moyen observé pour ces 19 neuropaludismes est de deux ans et 4 mois (dispersion entre 7,5 mois à 6 ans). Les accès pernicieux sont relativement peu fréquents à Brazzaville, une enquête réalisée d'après les registres d'admission en Service de Pédiatrie de l'Hôpital Général de Brazzaville (Vaisse et Carnevale, comm. pers.), sur les enfants hospitalisés dans le Service de Pédiatrie en 1977, 1978 et 1980 nous donne pour 2560 enfants moins de 1% de neuropaludisme (24 cas). En 1979, sur 6870 enfants hospitalisés à l'Hôpital Général 0,5% (40 cas), étaient atteints de neuropaludisme (enquête Morault et Peelman, comm. pers.). Dans l'enquête menée par Trape et al. (1987) à Brazzaville concernant la période d'octobre 1982 à février 1984, on trouve 1,15% d'accès pernicieux pour les enfants de 0 à 4 ans et 0,25% pour les 5 à 9 ans.

III. 2 INFECTION PALUSTRE ET ACCES PERNICIEUX :

Quinze de nos accès pernicieux présentaient à l'admission une recherche hématozoaires positive sur frottis-goutte-épaisse, et seul *Plasmodium falciparum* a été observé. L'intensité de la

parasitémie est très variable (l'enfant Mo... possédait plus de 60% des érythrocytes parasités ou pluriparasités par l'hématozoaire), parfois la parasitémie circulante va persister plusieurs jours. Quatre accès pernicioeux, présentaient un frottis négatif au moment de leur admission, et ces quatre sujets avaient reçu une injection de Quinimax® avant d'être hospitalisés. Les neuropaludismes qui vont évoluer favorablement, sans complication secondaire avaient, soit une parasitémie très intense pendant plusieurs jours (malgré le traitement), soit une parasitémie circulante nulle dès le premier prélèvement (frottis/goutte-épaisse). Ainsi une forte parasitémie peut être le signe d'un accès palustre sévère, mais l'inverse n'est pas vrai. Les accès pernicioeux compliqués avaient tous une faible parasitémie érythrocytaire au moment de leur hospitalisation. Tous les cas de notre enquête décédés de leur neuropaludisme avaient un frottis/goutte-épaisse positif à l'entrée avec une parasitémie toujours modérée.

III. 3 EVOLUTION ET COMPLICATIONS :

Nous avons observé quatre décès, avec un âge moyen des enfants décédés qui est de 33 mois. Trois décès sont survenus le lendemain de l'hospitalisation (deux comas profonds, et un coma avec hyperthermie maligne), et un décès plus tardif, avec pneumothorax iatrogène sans sortie du coma. Les 15 autres cas ont évolués favorablement à long terme. Cependant, dix évolutions se firent avec des complications secondaires : une gastro-entérite, deux otites et deux pneumopathies. Les complications pulmonaires au cours du neuropaludisme sont bien connues (Phillips *et al.*, 1986), le paludisme en provoquant une forme de syndrome de détresse respiratoire a d'énormes conséquences sur la survie de l'accès pernicioeux à cause de l'hypoxie qui vient s'ajouter à l'atteinte cérébrale (James, 1985). Dans huit cas (soit 42%), cinq à l'admission, et trois en cours d'évolution, nous avons observé des rates I ou II (classification OMS). A Kinshassa, Omanga *et al.* (1977), ont observé une splénomégalie dans 35% des cas de neuropaludisme. La parasitémie circulante des sujets présentant une rate palpable a toujours été décelable, sinon intense (le jour de leur hospitalisation). Cependant l'inverse n'est pas vrai, la présence d'une forte parasitémie circulante ne s'accompagne pas toujours d'une splénomégalie. Nous n'avons jamais palpé de rate chez les sujets ayant présenté une évolution prolongée de leur neuropaludisme grévée de complications.

IV. ETUDE BIOLOGIQUE DES ACCES PERNICIEUX :

IV. 1 GENOTYPE HEMOGLOBINIQUE :

Parmi les 19 accès pernicioeux, deux enfants se sont révélés être des drépanocytaires hétérozygotes AS. L'un des drépanocytaires a présenté une parasitémie nulle ou non décelable à l'admission, l'autre hétérozygote AS a présenté une parasitémie intense avec plus de 10.000 parasites par mm³ pendant les deux premiers jours. Aucun de ces deux drépanocytaires n'avait d'antécédent pathologique particulier, leur neuropaludisme a été rapidement jugulé par la thérapeutique antipalustre. Etant donné la prévalence du gène de la drépanocytose en Rep. Pop. du Congo, il est tout à fait normal de rencontrer deux hétérozygotes dans notre série de 19 accès pernicioeux, car les sujets AS peuvent faire des neuropaludismes (Tchokoteu, 1973; Adeloie *et al.*, 1971; Omanga *et al.*, 1977), et dans le Service de Pédiatrie de l'Hôpital Général de Brazzaville, parmi les 41 enfants atteints de neuropaludisme en 1977, 1978 et 1980 (cumul), 12,2% étaient des drépanocytaires AS (Vaisse *et al.*, 1981).

IV. 2 ETUDE DES PROTEINES SERIQUES :

---> *Les protéines totales, albumine et préalbumine :*

Les travaux des Dr Yala (Hôpital Militaire de Brazzaville) et Fribourg-Blanc (Paris), portant sur un échantillonnage de 190 sujets sains congolais pour ont donné les normes de base pour la Rep. Pop. du Congo (Fig. IV et Fig. V), concernant nos accès pernicioeux, nous avons observé une élévation du taux des protéines totales, cependant cette augmentation concerne très peu la fraction albumine du proteinogramme.

---> *Les alpha-1 globulines :*

Nous avons une augmentation des alpha-1 globulines, cette élévation est constante, mais assez variable d'un sujet à l'autre. Dans l'accès palustre l'élévation du pic des alpha-1 glycoprotéines a été remarqué par Migasena *et al.* (1978), alors que d'autres auteurs (Murphy *et al.*, 1972 ; Mousa *et al.*, 1973) rapportent des cas avec une baisse du taux des alpha-1 glycoprotéines.

---> *Les alpha-2 globulines :*

De façon inconstante nous allons retrouver une hyper alpha-2 globulinémie qui est en général très précoce, cette élévation traduit l'existence d'un syndrome inflammatoire très intense, peut être en rapport avec une capillarite, qui doit être un phénomène constant dans tout accès pernicioeux, en rapport avec des lésions des microvaisseaux, congestions ou obstructions avec lésions endothéliales,

foyers hémorragiques périvasculaires (Lemercier *et al.*, 1969 ; Maegraith, 1972 ; Yoeli, 1976), ou en rapport avec des phénomènes de coagulation vasculaire disséminée (Jaroovesama, 1972; Punyagupta *et al.*, 1974; Philips *et al.*, 1986). Comme l'élévation des alpha-2 globulines n'est pas toujours retrouvée dans nos différents cas étudiés (Fig. III et IV), peut être existe-t-il une compensation par diminution de l'haptoglobine, est ce seulement si cette dernière baisse de façon trop importante que l'on pourra parfois observer une augmentation des alpha-2 globulines (Migasena *et al.*, 1978). On sait maintenant que la diminution de l'haptoglobine est due à l'infection palustre (Fribourg-Blanc *et al.*, 1983), sans qu'il soit nécessaire de mettre en cause une anhapto-globulinémie d'origine génétique (dans le paludisme le phénomène inflammatoire fait que l'haptoglobine est plus faible que l'alpha-1 glycoprotéine, mais il n'existe pratiquement pas de captations totales).

--> *Les beta-globulines :*

Nous avons observé une hyper beta-globulinémie, mais de façon inconstante d'un sujet à l'autre, et d'après nos observations, c'est un phénomène qui apparaît tardivement dans l'évolution du neuropaludisme. Pour Chiewsilp *et al.* (1988), l'élévation de la fraction β_2 -microglobuline est une caractéristique des porteurs d'hématozoaires, alors que Mousa *et al.* (1973), n'ont pas trouvé de modification du taux de ces globulines. Pour Klainer *et al.* (1969), qui ont remarqué une diminution inconstante des beta-globulines, ceci pourrait être en rapport avec la diminution du C3 (Fribourg-Blanc *et al.*, 1983).

--> *Les gamma-globulines :*

L'électrophorèse des protéines nous montre bien qu'il existe en général une augmentation des gammaglobulines qui est classique dans le paludisme (Cohen *et al.*, 1961; Cohen *et al.*, 1969), mais ce phénomène peut être parfois retardé, et dans notre étude nous avons observé tout d'abord une diminution du taux des gammaglobulines (Fig III et IV). Cependant il faut peut être soupçonner une sidération de l'immunité en début d'accès pernicieux, par la suite les taux reviennent rapidement à la normale ($\bar{J} 3$ à $\bar{J} 5$), et c'est dans un deuxième temps que les gammaglobulines vont augmenter au cours de l'évolution de l'accès pernicieux. Par contre, lorsque après une semaine d'hospitalisation, nous avons chez certains accès pernicieux apparition d'une complication (otite, pneumopathie), ou une reprise de l'hyperthermie, cela va toujours correspondre à une chute de ces gammaglobulines.

V. ETUDE SEROLO-IMMUNOLOGIQUE DES ACCES PERNICIEUX :

V. 1 EN IMMUNO ELECTROPHORESE ET IMMUNODIFFUSION RADIALE :

On sait que les accès palustres simples déterminent une hyper-gammaglobulinémie chez les sujets en zone d'endémie (Curtain *et al.*, 1964; Logie *et al.*, 1970; Apampa *et al.*, 1980), surtout remarquée chez les enfants (Charmot *et al.*, 1962; Cohen *et al.*, 1961). Nous n'avons pas retrouvé d'augmentation très importante des immunoglobulines au cours de ces 19 accès pernicieux (Tableaux et graphes), les taux présentent des valeurs plus faibles que prévues. Nous avons une remarquable homogénéité des Ig A et des Ig M (graphes), et leur taux. Cependant les Ig A, les Ig D et les Ig E n'ont aucun rôle immunoprotecteur (Cohen *et al.*, 1974), dans le paludisme l'action protectrice est retrouvée au niveau des IgG et IgM spécifiques. Pour les Ig G, quant il existe une élévation de ces immunoglobulines, elle correspond à une augmentation des gammaglobulines, de même à une diminution de ces dernière correspond à une baisse des Ig G. Une chute des Ig G est observée chaque fois qu'il y a une reprise de l'hyperthermie, ou lorsque survient une complication dans l'évolution du neuropaludisme (graphes). Nous n'avons pas remarqué de modification particulière des arcs de précipitation, en immunoélectrophorèse, que se soit avec un sérum antiglobulines complet ou avec un sérum spécifique des IgG, IgA ou IgM.

V. 2 EN IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE :

A Brazzaville sait ont comment se fait la dynamique d'acquisition de l'immunité antipalustre, 25 à 40% des enfants de 1 à 6 ans ont une sérologie négative (Camevale *et al.*, Morault *et al.*). Aussi il nous faut classer notre série de neuropaludismes selon deux tranches d'âge : les sujets de 1 à 3 ans (13 enfants), et les sujets de 4 à 6 ans (6 enfants). Dans la tranche d'âge des 1 à 3 ans, pour des raisons de recueil de données, seuls 10 sujets pourront être pris en considération (graphes). Aucun de nos sujets n'avait un titre d'anticorps en IFI négatif à l'entrée en Service de Pédiatrie. Nous avons constaté qu'au moment de l'hospitalisation dans le Service, des taux d'Ac en IFI élevés chez les enfants fébriles depuis plusieurs jours (graphes). Il faut donc juger l'évolution des titres d'anticorps à partir du premier jour de fièvre, et non pas à compter du premier jour d'hospitalisation. On constate que le taux des anticorps va croître rapidement à partir des trois premiers jours de fièvre, pour atteindre un maximum aux alentours du 10^{ème} jour, puis décroître progressivement.

VI. OBSERVATIONS ET DISCUSSIONS :

VI. 1 NEUROPALUDISME ET IMMUNITÉ :

L'observation d'une augmentation du taux des Ac en immunofluorescence, correspond toujours à une élévation des immunoglobulines (graphes), il est admis depuis longtemps qu'il existe des corrélations entre l'élévation des anticorps décelés en IFI et l'élévation du taux des gammaglobulines (Kuvin *et al.*, 1962). Les anticorps spécifiques antipalustres observés en IFI se trouvent à la fois dans les IgG et les IgM (Abele *et al.*, 1965; Tobie *et al.*, 1966; Cox *et al.*, 1970). L'étude sérologique longitudinale concernant l'évolution de ces 19 neuropaludismes, nous a montré une élévation progressive des anticorps antiplasmodium décelables en immunofluorescence indirecte.

L'évolution des titres d'anticorps au cours du neuropaludisme est superposable à celle observée au cours de l'accès palustre simple, mais si la dynamique immunitaire est la même, les taux sérologiques restent inférieurs. Il semble exister au début de l'accès pernicieux un phénomène de sidération immunitaire, et il faut peut être envisager l'existence d'une sidération immunologique chez les sujets atteints de neuropaludisme, ensuite la réponse immunologique antipalustre est de type secondaire. Dans l'accès pernicieux, une chute des IgG précède l'apparition de complications ou la reprise de la fièvre, mais cette diminution n'empêche pas la progression régulière des anticorps fluorescents. Si un titre élevé d'anticorps antiplasmodiaux protège du neuropaludisme, des titres faibles ne permettent pas de présumer du degré de protection qu'ils confèrent. Dans le neuropaludisme la réponse IgM est faible ou le plus souvent absente, il n'existe pas de corrélation entre le taux des immunoglobulines IgM et la forme évolutive du syndrome palustre aigu.

VI. 2 RÉPONSE IMMUNITAIRE ET PARASITÉMIÉ CIRCULANTE :

On ne trouve pas de corrélations entre l'importance de la parasitémie périphérique dans la circulation sanguine avec l'intensité de la réponse en anticorps antipalustres décelables en IFI, certains sujets vont acquérir des taux élevés malgré une parasitémie faible (graphe), d'autres après une parasitémie très intense (graphe). Dans un seul cas nous n'avons pas observé de modification du premier taux d'Ac en IFI (graphe), cet enfant qui a présenté un accès hyperthermique avec coma. Ce sujet a toujours présenté une goutte épaisse négative, mais il a réagi favorablement à la thérapeutique antipalustre seule (nous permettant de classer ce coma hyperthermique comme étant un accès pernicieux). Il faudrait corréler la stagnation des taux d'anticorps en IFI antipalustre chez ce sujet avec cette absence de parasitémie sanguine circulante dans le sang périphérique. En effet de nombreux auteurs (*et al.*, *et al.*) ont constaté que l'apparition de ces anticorps décelés en immunofluorescence, est toujours liée à l'apparition des hématozoaires dans la circulation sanguine. Lorsque la est présente, son

VI. 3 NEUROPALUDISME ET SPLENOMÉGALIE :

Dans notre étude de pour les deux tiers des 19 cas d'accès pernicieux, on constate que cette forme grave du paludisme apparaît le plus souvent comme une maladie primitive, cette impression est aussi celle de Rey *et al.* (1967). En effet, cette complication survient principalement au moment du hiatus immunologique dont nous avons déjà parlé, et le neuropaludisme apparaît brusquement. L'accès simple primitif n'est pas encore dévoilé cliniquement que brusquement les défenses de l'enfant sont dépassées par l'infection parasitaire, et le neuropaludisme apparaît d'un coup chez ce jeune sujet non-immun ou en cours d'immunisation.

Les quatre accès pernicieux décédés n'ont jamais développé de splénomégalie. Ceci est à rapprocher des quatre cas de neuropaludisme étudiés par Okouoyo (1981), dont deux sujets (dont un décès) n'ont pas présenté de splénomégalie. On sait que la présence de la rate chez un sujet renforce considérablement la résistance au paludisme (Wylert *et al.*, 1977; Quinn *et al.*, 1980; Gysin *et al.*, 1982), on connaît également le phénomène d'apparition de parasitémie palustre après splénectomie (Oster *et al.*, 1980). Pour notre part, nous avons constaté que l'existence d'une splénomégalie est un facteur de bon pronostic, les accès pernicieux avec avec rate palpable, ont tous effectué une hospitalisation moins longue que les autres neuropaludismes, ce fait clinique a également été constaté par Rey *et al.* (1967), et par Omanga *et al.* (1977).

VII. REMARQUES ET CONCLUSIONS :

VII. 1 LA CHIMIOPROPHYLAXIE EN QUESTION :

La chimioprotection fait courir des risques importants à l'enfant en ne lui permettant absolument pas de développer d'immunité antipalustre, surtout si cette chimioprophylaxie est bien conduite depuis la naissance. Elle laisse l'enfant vierge de toute immunité antipalustre, aussi elle doit

être strictement réglée, sous peine d'être sanctionnée par un neuropaludisme, surtout en zone de forte endémie palustre comme c'est le cas au Congo.

Après interrogatoire des parents, on a constaté que l'enfant B... ne recevait qu'un comprimé de Flavoquine® par mois. Par contre, l'enfant D... aux dires des parents, recevait régulièrement un comprimé de Flavoquine® par semaine, et chez ce sujet l'accès pernicieux est donc secondaire à un arrêt brutal de cette prise; c'est le neuropaludisme le plus agé de notre série, et ce malade est décédé rapidement (enfant agé de 6 ans 1/2). Ainsi une chimioprophylaxie mal suivie ne permet pas l'acquisition d'une immunité antipalustre suffisante et ne permettra pas toujours d'échapper au danger de faire un accès pernicieux. Comme cela est souvent le cas dans les milieux défavorisés en Afrique, la chimioprophylaxie est mal conduite et épisodique : arrêts dans la prise, oubli, manque d'argent, manque de comprimés disponibles etc..., et elle est dangereuse, car les parents souvent mal informés croient l'enfant protégé de l'infection palustre.

VI. 2 PLAYDOYER POUR LE RESPECT DES ANTIPALUDEENS :

D'autres fois l'enfant est un peu plus agé, il a dépassé le stade du tout jeune sujet non immun, et après un accès palustre simple apparaît un neuropaludisme, et il faudra rechercher des raisons thérapeutiques à l'installation de cette forme grave chez un enfant semi immun. Parfois ce sont les antipaludéens prescrits au dispensaire (thérapeutique per os) ne sont pas administrés par les parents (manque d'argent pour la pharmacie, prétexte d'allergie cutanée, refus de l'enfant etc...). D'autres fois le traitement à la Nivaquine® est prescrit à dose insuffisante, et arrêté dès que la fièvre s'amende, ou bien les parents ne pensent pas à renouveler la prise du traitement antipalustre lorsque l'enfant vomit. Ainsi, dans cette série de 19 observations, nous avons quelques enfants qui ont été traités dans un dispensaire pour accès palustre simple, et secondairement s'est développé un accès pernicieux qui a provoqué l'hospitalisation. Une thérapeutique efficace d'emblée lorsque l'enfant se présente pour un accès paludéen simple, permettrait sans doute d'éviter ces évolutions vers un neuropaludisme.

RESUME

Nous avons étudié 19 accès pernecieux chez l'enfant, en Rep. Pop. du Congo, zone d'hyperendémie palustre, l'âge moyen de ces neuropaludismes est de 2 ans et 9 mois, et nous avons observé 4 décès. Nous avons observé de façon inconstante une hyper alpha-2 globulinémie, et une élévation très variable des beta-globulines. Deux des accès pernecieux étudiés étaient drépanocytaires homozygotes AS. Une splénomégalie est un élément de bon pronostic, les neuropaludismes ayant présenté une rate palpable, ont tous effectué une hospitalisation moins longue. Les quatre enfants décédés n'ont jamais présenté de splénomégalie.

L'étude séro-immunologique longitudinale de 19 accès pernecieux, montre que l'évolution des titres d'anticorps au cours du neuropaludisme est superposable à celle observée au cours de l'accès palustre simple, mais si la dynamique immunitaire est la même, les taux sérologiques restent inférieurs. Dans l'accès pernecieux, une chute des IgG précède l'apparition de complications ou la reprise de la fièvre; cette diminution n'empêche pas la progression régulière des anticorps fluorescents. Si un titre élevé d'anticorps antiplasmodiaux protège du neuropaludisme, des titres faibles ne permettent pas de présumer du degré de protection qu'ils confèrent. Les IgA et IgD semblent ne jouer aucun rôle dans le développement de la réponse immunitaire. Il semble exister au début de l'accès pernecieux un phénomène de sidération immunitaire, ensuite la réponse immunologique antipalustre est de type secondaire. Dans le neuropaludisme la réponse IgM est faible ou le plus souvent absente, il n'existe de pas de corrélation entre le taux des immunoglobulines IgM et la forme évolutive du syndrome palustre aigu. -

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Dr Ben Ismaïl, du Service de Parasitologie et de Médecine Tropicale du Prof. Gentilini, à la Pitié-Salpêtrière (Paris), pour les dosages en immunofluorescence d'un échantillonnage de nos sérums. Nous remercions le Dr Vaisse et nous remercions le Dr Nzingoula, Chef du Service de Pédiatrie à l'Hôpital Général de Brazzaville, où ont été hospitalisés les dix-neuf accès pernecieux. Nous remercions le Dr Fribourg-Blanc, Laboratoire d'Immunologie, Blvd du Montparnasse, Paris, pour les titrages d'un échantillonnage de nos sérums. Nous remercions Mr Berl, Laboratoires Centraux de l'ORSTOM à Bondy, pour la seconde lecture des protéinogrammes (appareil Gelman® automatique).

BIBLIOGRAPHIE

- ADELOYE (A.), LUZZATO (I.) and EDINGTON (G.M.). - Severe malarial infection in a patient with sickle-cell anemia. *Brit. Med. J.*, (22 may), 445-446, 1971.
- BRASSEUR (P.), AGRAPART (M.), BALLEST (J.J.), DRUILHE (P.), WARRELL (M.J.) et THARAVANIJ (S.). - Impaired cell-mediated immunity in *P. falciparum* infected patients with high parasitemia and cerebral malaria. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 27, (1), 38-50, 1983.
- CARNEVALE (P.). - Le paludisme dans un village des environs de Brazzaville. Thèse de Doctorat Sciences, N° 2175, Centre Orsay, Université de Paris Sud, 1979.
- CARNEVALE (P.), BOSSENO (M.F.), LALLEMANT (M.), MOLEZ (J.F.), MORAUULT (B.), MOUCHET (J.), TRAPE (J.F.), MICHEL (R.), VAISSE (D.) et al. - Le paludisme en milieu rural au Congo. Travaux et Documents de Géographie Tropicale (Table ronde "Tropique et Santé"), CEGET-CNRS/ACCT, 109-121, Bordeaux, (4-5-6 oct.) 1982.
- CHIEWSILP (D.), CHIEWSILP (P.), BOONPUCKNAVIG (S.) and RUGSAKUL (T.). - Elevation of beta 2 - microglobulin in malaria. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 82, (5), 688-689, 1988.
- COHEN (S.), MAC GREGOR (I.A.) and CARRINGTON (S.). Gammaglobulin and acquired immunity to human malaria. *Nature*, 192, (4804), 733-736, (nov.25) 1961.
- COHEN (S.) and BUTCHER (G.A.). - Comments on immunisation. *Milit. Med.*, (special issue), 1191-1197, (sept) 1969.
- CORNILLE-BROGGER (R.), FLEMING (A.F.), KAGAN (I.), MATSUSHIMA (T.) and MÔLINEAUX (L.). - Abnormal haemoglobins in the Sudan savanna of Nigeria. II - Immunological response to malaria in normals and subjects with sickle cell trait. *Ann. of Trop. Med. and Parasitol.*, 73, (2), 173-183.
- FRIBOURG-BLANC (A.), BRASSEUR (P.), DRUILHE (P.), BALLEST (J.J.) and THARAVANI (S.). - Malaria antibodies and serum protein in Thai patients with *P. falciparum* infection. Comm. 2ème Conf. Int. sur le Paludisme et les Babesioses, Annecy, France, (19-22 sept.) 1983.
- GYSIN (J.), FANDEUR (T.) and PEREIRA DA SILVA (L.). Kinetics of the humoral immune response to blood induced *falciparum* malaria in the squirrel monkey. *Ann. d'Immunologie*, 133-D, (1), 95-102, 1982.
- JAMES (M.F.M.). - Pulmonary damage associated with *falciparum* malaria : a report of ten cases. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 79, 123-138, 1985.
- JAROONVESAMA (N.). - Intravascular coagulation in *falciparum* malaria. *Lancet*, i, 221-223, 1972.
- KLAINER (A.S.), GILLILAND (P.F.), CIRKSENA (W.J.), BARTELONI (P.J.) and BAISEL (W.R.). - Serum glycoproteins in naturally acquired malaria in man. *Arch. Inst. Med.*, 123, 620-625, 1969.
- LACAN (A.). - Indices paludométriques et immunité palustre chez l'enfant africain. *Bull. Soc. Path. Exo.*, 50, (2), 302-306, 1957.
- LEMERCIER (G.), BERT (J.), NOUHOUAYI (A.), REY (M.) et COLLOMB (H.). - Le neuropaludisme : aspects neurologiques, problèmes physiopathologiques. *Path. Biol.*, 17, (409-110), 459-472, 1969.

- MAEGRAITH (B.) and FLETCHER (A.). - The pathogenesis of mammalian malaria. *Advances in Parasitology*, 10, 49-75, 1972.
- MICHEL (R.), CARNEVALE (P.), BOSSENO (M.F.), MOLEZ (J.F.), BRANDICOURT (O.), ZOULANI (A.) et MICHEL (Y.). - Le paludisme à *Plasmodium falciparum*, et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. III. Prévalence du trait drépanocytaire en milieu scolaire de la région Brazzavilloise. *Med. Trop.*, 41, (4), 403-411, 1981.
- MIGASENA et al. - Serum protein fractions in acute *falciparum* malaria obtained by polyacrylamide gel electrophoresis. *Am. Trop. Med. Parasit.*, 72, (1), 3-12, 1978.
- MOLEZ (J.F.), BRANDICOURT (O.), PEELMAN (P.), DUBOZ (P.), MOUSSOKI (J.), CARNEVALE (P.) et DRUILHE (P.). - Dynamique de l'acquisition de la prémunition antipalustre en zone rurale autour de Brazzaville et effets de la chloroquinisation. Comm. XIVème Conf. Techn. O.C.E.A.C., Yaoundé, Cameroun, (20-23 avr.) 1982.
- MOUSA (W.), TENYCK (D.R.) and WASLIEN (C.I.). - Serum glycoproteins and malaria in Ethiopia. *J. Lab. Clin. Med.*, 89, 924-929, 1973.
- MURPHY (S.G.), KLAINER (A.S.) and CLYDE (D.F.). - Characterisation and pathophysiology of serum glycoprotein alterations in malaria. *J. Lab. Clin. Med.*, 79, 51-61, 1972.
- OKOUOYO (E.). - Neuropaludisme du nourrisson et de l'enfant. *Med. Afr. noire*, 28, (3), 177-184, 1981.
- OMANGA (U.), NGANDU (K.), DISENGOMOKA (I.) et BADIBANGA (B.). - Accès pernicieux palustres chez l'enfant. *Afr. Med.*, 16, (153), 507-516, 1977.
- OSTER (C.N.), KOONTZ (L.C.) and WYLER (D.J.). - Malaria in asplenic mice : effects of splenectomy, congenital asplenia, and splenic reconstitution on the course of infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 29, 1138-1142, 1980.
- PENE (P.) et TOUZE (J.E.). - Les formes graves de paludisme (diagnostic et indications thérapeutiques). *Concours Med.*, 98, (15), 2269-2278, 1976.
- PHILLIPS (R.E.) and WARRELL (D.A.). - The pathophysiology of severe *falciparum* malaria. *Parasitology Today*, 2, (10), 271-282, 1986.
- PUNYAGUPTA (S.), SCRICHAIKUL (T.), NITIYANANT (P.) and PETCHCLAI (B.). - Acute pulmonary insufficiency in *falciparum* malaria : summary of 12 cases with evidence of disseminated intravascular coagulation. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 23, 551-559, 1974.
- QUINN (T.C.) and WYLER (D.J.). - Resolution of acute malaria (*P. berghei* in the rat) : reversibility and spleen dependence. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 29, 1-4, 1980.
- REY (M.) et COLLOMB (H.). - Accès pernicieux palustre en zone d'endémie. *Med. Afr. noire*, 7bis, (N° Spécial, Premières Journées Médicales d'Abidjan), 173-183, 1983.
- SULZER (A.), MOYROUD (J.), TURNER (A.), BOSSENO (M.F.), CHISHOLM (E.), OVAZZA (L.), LISSOUBA (P.) et CARNEVALE (P.). - Les anticorps antiplasmodiaux materno-transmis et leur évolution chez le nourrisson en zone d'endémie palustre stable (Rep. Pop. du Congo). *Cah. O.R.S.T.O.M., Sér. Entomo. Med. et Parasitol.*, 24, (3), 159-174, 1986.
- TCHOKOTEU (P.F.). - Contribution à l'étude de la drépanocytose dans le centre sud de la République Unie du Cameroun. Thèse Doctorat en Médecine, Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences Médicales (N° d'ordre 37), Université de Nancy, (26 fevr.) 1973.
- TRAPE (J.F.), QUINET (M.C.), NZINGOULA (S.), SENG (P.), TCHICHELLE (F.), CARME (B.), CANDITO (D.) et al. - Malaria and urbanization in Central Africa : the example of

Brazzaville, Part V. Pernicious attacks and mortality. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 81, (Supplément N° 2), 34-42, 1987.

VAISSE (D.), MICHEL (R.), CARNEVALE (P.), BOSSENO (M.F.), MOLEZ (J.F.), PEELMAN (P.), LOEMBE (M.T.), NZINGOULA (S.), ZOULANI (A.). - Le paludisme à *Plasmodium falciparum*, et le gène de la drépanocytose en République Populaire du Congo. II. Manifestations cliniques du paludisme selon la parasitémie et le génotype hémoglobinique. *Med. Trop.*, 41, (4), 413-423, 1981.

-WYLER (D.J.), MILLER (L.H.) and SCHMIDT (L.C.). - Spleen fonction in quartan malaria : evidence for both protective and suppressive in host defense. *J. Infect. Dis.*, 135, 86-93, 1977.

YOELI (M.). - Cerebral malaria. The quest for suitable experimental models in parasitic diseases of man. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 70, (1), 24-35, 1976.

ABELE (D.C.), TOBIE (J.E.), HILL (G.J.), CONTACOS (P.G.) and EVANS (C.B.). - Alterations in serum proteins and 19 S antibody during the course of induced malaria infection in man. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14, 191, 1965.

AMBROISE-THOMAS (P.). - La réaction d'immunofluorescence dans l'étude séro-immunologique du paludisme. *Bull. OMS/WHO*, 50, 267-276.

APAMPA (O.O.), SALIMOU (L.S.), WILLIAMS (A.I.O.) and OSUNKOYA (B.O.). - Serum level of immunoglobulin G subclasses in Nigerians. *Trop. and Geographical Med.*, 32, (1), 50-52, 1980.

CARNEVALE (P.), BOSSENO (M.F.), LALLEMANT (M.), MOLEZ (J.F.), MORAULT (B.), MOUCHET (J.), TRAPE (J.F.), MICHEL (R.), VAISSE (D.) et al. - Le paludisme en milieu rural au Congo. Travaux et Documents de Géographie Tropicale (Table ronde "Tropique et Santé"), CEGET-CNRS/ACCT, 109-121, Bordeaux, (4-5-6 oct.) 1982.

CHARMOT (G.). - Paludisme et hypergammaglobulinémie en Afrique. *Med. Trop.*, 22, (6), 667-671, 1962.

CHARMOT (G.) et ANDRE (L.J.). - Les immunoglobulines, notions récentes, intérêt en pathologie tropicale. *Med. Trop.*, 26, (2), 105-114, 1966.

COHEN (S.), MAC GREGOR (I.A.) and CARRINGTON (S.). - Gammaglobulin and acquired immunity to human malaria. *Nature*, 192, (4804), 733-736, (nov. 25) 1961.

COHEN (S.) and BUTCHER (G.A.). - Comments on immunisation. *Milit. Med.*, (special issue), 1191-1197, (sept) 1969.

COHEN (S.) and BUTCHER (G.A.). - Properties of protective malaria antibody. *Nature*, 225, (21 feb.), 732-734, 1970.

COX (F.E.G.). - The specificity of immunoglobulin G and immunoglobulin M in the fluorescent antibody test for malaria parasites in mice. *WHO/MAL*, 70.719, 1970.

CURTAIN (C.C.), KIDSON (C.), CHAMPNESS (D.L.) and GORMAN (J.G.). - Malaria antibodies content of gamma 2-7 S globulin in tropical population. *Nature*, 203, 1366-1367, 1964.

GANGULY (N.K.), CHANDANANI (R.E.) MAHAJAN (R.C.), SHARMA (S.) and VASUDEVA (V.). - Immunoglobulins and C 3 levels in *P. vivax* infection and their relationship to haemagglutination antibody titres. *Indian R. of Med. Research*, 71, 505-509, (april) 1980.

- JOHANSSON (S.G.O.), MELLBIN (T.) and VAHLQUIST (B.). - Immunoglobulin level in Ethiopian preschool children. *The Lancet*, 1118-1121, (may 25) 1968.
- KUVIN (S.F.), TOBIE (J.E.), EVANS (C.D.), COUTNEY (G.R.) and CONTACOS (P.G.). - Fluorescent antibody studies on the course of antibody production and serum gamma globulin levels on normal human infected with malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 11, 429-436, 1962.
- LOGIE (D.E.), MAC GREGOR (I.A.), ROWE (D.S.) and BILLEWICKZ (W.Z.). - Plasma immunoglobuline concentrations in mother and newborn children, with special reference to placental malaria. *Bull. OMS/WHO*, 49, (6), 547-554, 1973.
- MAC GREGOR (I.A.). - L'immunochimie du paludisme. *Med. Afr. Noire*, 5, 213-218, (mai 67) 1967.
- MAC GREGOR (I.A.) and WILSON (R.J.M.). - Precipitating antibodies and immunoglobulins in *P. falciparum* infection in the Gambia. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65, (2), 135-145, 1971.
- MOLEZ (J.F.), BRANDICOURT (O.), PEELMAN (P.), DUBOZ (P.), MOUSSOKI (J.), CARNEVALE (P.) et DRUILHE (P.). - Dynamique de l'acquisition de la prémunition antipalustre en zone rurale autour de Brazzaville et effets de la chloroquinisation. Comm. XIVème Conf. Techn. O.C.E.A.C., Yaoundé, Cameroun, (20-23 avr.) 1982.
- MOUSA (W.), TENEYCK (D.R.) and WASLIEN (C.I.). - Serum glycoproteins and malaria in Ethiopia. *J. Lab. Clin. Med.*, 89, 924-929, 1973.
- OMANGA (U.) et MUGANGA (N.). - Anticorps fluorescents au cours du paludisme aigu à *P. falciparum* chez des enfants en zone d'endémie. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 61, 5-14, 1981.
- O.M.S. / W.H.O. - Epreuves sérologiques dans le paludisme. *Bull. OMS/WHO*, 51, (3), 299-305, 1983.
- LOUDART (J.L.), DIOPMAR (I.), SOW (A.) et GARRE (M.J.). - Anticorps fluorescents dans le sérum et le L.C.R. des malades suspects de neuropaludisme à *P. falciparum*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 69, 224-231, 1976.
- REY (M.), MAC GREGOR (I.A.) et MATTERN (P.). - A propos des anticorps décelés chez les paludéens par immunofluorescence. *Med. Afr. noire*, 6, (Juin 67), 319-22, 1967.
- SULZER (A.), MOYROUD (J.), TURNER (A.), BOSSENO (M.F.), CHISHOLM (E.), OVAZZA (L.), LISSOUBA (P.) et CARNEVALE (P.). - Les anticorps antiplasmodiaux materno-transmis et leur évolution chez le nourrisson en zone d'endémie palustre stable (Rep. Pop. du Congo). *Cah. O.R.S.T.O.M., Sér. Entomo. Med. et Parasitol.*, 24, (3), 159-174, 1986.
- TOBIE (J.E.), ABELE (D.C.), WOLFF (S.M.), CONTACOS (P.G.) and EVANS (C.B.). - Serum immunoglobulin levels in human malaria and their relationship to antibody production. *The J. of Immunology*, 97, (4), 498-505, 1966.

SHORT REPORT: GAMETOCYTES, CHLOROQUINE PRESSURE, AND THE RELATIVE PARASITE SURVIVAL ADVANTAGE OF RESISTANT STRAINS OF FALCIPARUM MALARIA IN WEST AFRICA

VINCENT ROBERT, JEAN-FRANCOIS MOLEZ, AND JEAN-FRANCOIS TRAPE
Institut Francais de Recherche Scientifique pour le Developpement en Cooperation (ORSTOM),
Laboratoire de Paludologie, Dakar, Senegal

Abstract. Patients with *Plasmodium falciparum* infections were selected with an in vivo chloroquine sensitivity assay. Fourteen days after treatment, the gametocytes were studied in relation to asexual parasite responses classified as drug-sensitive or showing RI or RII resistance. Gametocyte prevalence and density appeared significantly higher in RII than RI strains and higher in RI than in sensitive strains. This finding on gametocyte variation in vivo may explain why the RII type of chloroquine resistance has become more prevalent than RI everywhere in tropical Africa in the short time since its emergence. The biological and epidemiologic advantage of chloroquine-resistant malaria mediated through gametocytes is discussed in the context of the present drug pressure in Africa.

In the city of Dakar, Senegal, a hypoendemic area for malaria where chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum* have been detected since 1988^{1,2} and have now reached a prevalence of 45%, we studied gametocyte numbers among sensitive (S) and RI and RII resistant parasites. In vivo chloroquine sensitivity assays, at a standard dose of 25 mg of chloroquine/kg of body weight, distributed over three days, were performed in 68 individuals (ages 2-70 years, mean 19.4, median 17) and blood slides were taken on days 0, 2, 4, 7, and 14. Thick blood films were Giemsa-stained and 200 microscopic oil-immersion fields were examined (corresponding to about 0.5 μ l of blood),³ from which the gametocyte density was estimated. The parasitologic incidence was low (about 0.6/person/year).⁴

Results were 42 chloroquine-sensitive responses (62%), 11 RI (16%), and 15 RII (22%). The prevalence rates of *P. falciparum* gametocytes in the three groups were similar on days 0 and 2; however, on days 4 and 7, resistant strains had double the rate of sensitive ones and on day 14, it was three times higher (Figure 1) ($P = 0.038$ on day 4, $P = 0.001$ on day 7, and $P < 10^{-4}$ on day 14, by Fisher's exact test). Combined data from days 7 and 14 showed that 30% of the patients with sensitive strains presented with gametocytes, as compared with 79% in patients with resistant strains ($P < 10^{-4}$, by Fisher's exact test); the relative proportions in RI and RII strains were 59% and 93%, respectively ($P = 0.005$, by Fisher's exact test).

Gametocyte densities on days 4, 7 and 14 were lower in sensitive as compared with both RI and RII strains (Figure 2). Combined data from days 7 and 14 showed that the geometric mean numbers of gametocytes from patients with sensitive, RI, and RII strains were, respectively, 0.7, 2.2, and 12.6/ μ l of blood (for S-RI, S-RII, and RI-RII comparisons; $P = 0.026$, $P < 10^{-4}$, and $P = 0.0006$, respectively, by the Mann-Whitney U test).

Although therapeutic responses were linked with age (age S > RI > RII; 21.8, 16.1, and 15.0 years old, respectively), a stratification in relation to age ruled out any influence of age on gametocyte prevalences and densities as measured by in vivo response. For children less than 15 years of age ($n = 25$), combined data from days 7 and 14 showed that gametocyte prevalences and densities of sensitive and resistant

strains were significantly different ($P < 10^{-4}$, by Fisher's exact test for prevalences and $P < 10^{-4}$, by the Mann-Whitney U test for densities). A similar result was obtained for those 15 years of age and older ($n = 43$) ($P = 0.002$ by Fisher's exact test and $P = 0.002$ by the Mann-Whitney U test).

Chloroquine is not thought to induce *P. falciparum* gametocytogenesis⁵ or to interfere with transmission once gametocytes have appeared in the bloodstream⁶⁻⁸ despite the higher infectivity of chloroquine-resistant strains in the rodent parasites *P. berghei* and *P. yoelii nigeriensis*.^{9,10}

Most studies of the response of *P. falciparum* to chloroquine have focused on asexual stages, with gametocyte responses rarely mentioned and not considered separately by the in vivo response. In areas of chloroquine resistance,

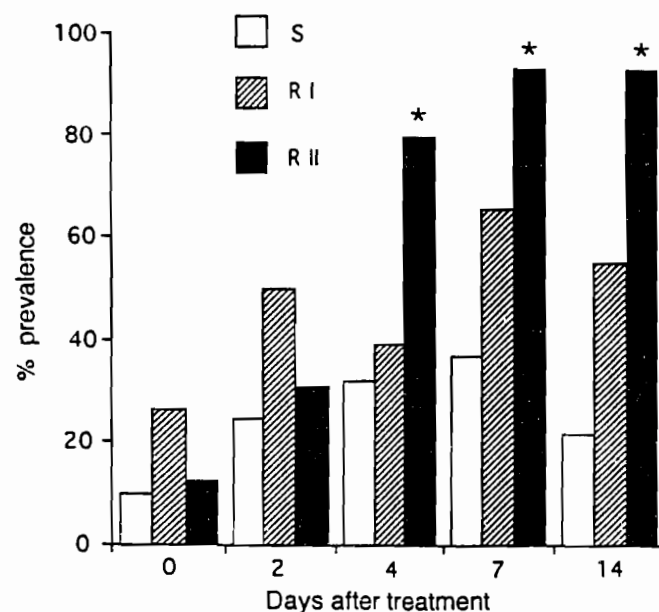


FIGURE 1. Evolution after treatment with chloroquine of gametocyte prevalence in the blood of patients with falciparum malaria attacks. Asterisks indicate significant differences ($P < 0.05$, by Fisher's exact test) from sensitive (S) patients (n varied on the different days of testing between 40 and 42 for S patients, 10 and 11 for RI patients, and 13 and 15 for RII patients). R = resistant

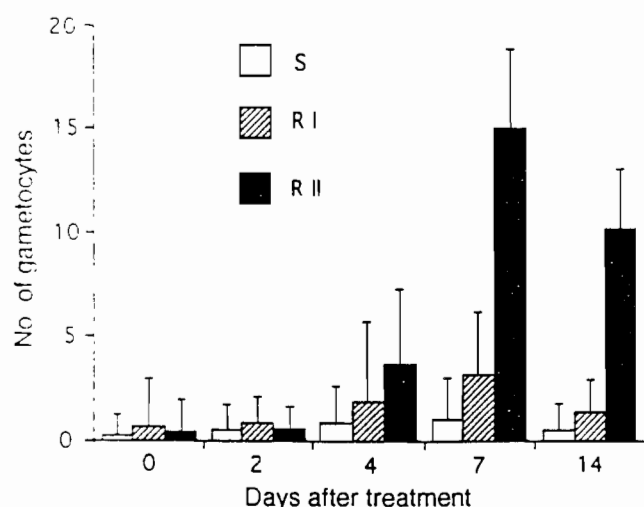


FIGURE 2. Evolution after treatment with chloroquine of the geometric mean gametocytemia per microliter of blood on patients with falciparum malaria attacks (upper bars indicate the standard deviation). S = sensitive; R = resistant.

data from Mozambique showed an increase in gametocytes on day 7 post-treatment, but this was not seen in Punjab.^{11,12}

Thorough observations on gametocytes are often difficult to extrapolate in terms of transmission, it is clearly established that gametocyte density is a critical factor in their infectivity to anophelins.⁷ Our observations suggest that when sensitive and RI or RII resistant strains coexist in a human population, the careful use of treatment with chloroquine leads to preferential transmission of the most resistant parasites. This may give a clue as to why the RII type of chloroquine resistance has become more prevalent than that of RI everywhere in tropical Africa in the short time since its emergence.

Acknowledgments: We thank Jacques Le Bras, Pierre Druilhe, and Geoffrey Targett for reviewing the manuscript and offering useful suggestions.

Financial support: This work was supported by the Ministère de la Coopération du Développement (France) and by ORSTOM.

Authors' address: Vincent Robert, Jean-François Molez, Jean-François Trape, Laboratoire de Paludologie, ORSTOM, PO Box 1386, Dakar, Senegal.

Reprint requests: Vincent Robert, Laboratoire de Paludologie, ORSTOM, PO Box 1386, Dakar, Senegal

REFERENCES

- Gaye O, Faye O, Bah IB, Diallo S, Diouf M, Ndiaye P, Ndiaye AA, Trape JF, 1991. Evolution de la chloroquinorésistance en zone urbaine. Résultats d'études menées à Dakar et Pikine. *Ann Soc Belg Med Trop* 71: 329-330.
- Trape JF, Legros F, Ndiaye P, Konate L, Bah IB, Diallo S, Verdier F, Hantun I, Le Bras J, 1989. Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 83: 761.
- Trape JF, 1985. Rapid evaluation of malaria parasite density: standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79: 181-184.
- Trape J-F, Lefebvre-Zante E, Legros F, Druilhe P, Rogier C, Bouganali H, Salem G, 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.
- Hogh B, Thompson R, Hetzel C, Fleck SL, Kruse NAA, Jones I, Dgedge M, Barreto J, Sinden RE, 1995. Specific and non-specific responses to *Plasmodium falciparum* blood-stage parasites and observations on the gametocytemia in schoolchildren living in a malaria-endemic area of Mozambique. *J Trop Med Hyg* 52: 50-59.
- Smalley ME, 1977. *Plasmodium falciparum* gametocytes: the effect of chloroquine on their development. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 71: 526-529.
- Tchuikam T, Mulder B, Dechering K, Verhave JP, Cot M, Carnevale P, Meuwissen J, Robert V, 1993. Experimental infections of *Anopheles gambiae* with *Plasmodium falciparum* of naturally infected gametocyte carriers in Cameroon: factors influencing the infectivity to mosquitoes. *Trop Med Parasitol* 44: 271-276.
- Wilkinson RN, Noeypatimanondh S, Gould DL, 1976. Infectivity of falciparum malaria patients for anopheline mosquitoes before and after chloroquine treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 70: 306-307.
- Ichimori K, Curtis CF, Targett GAT, 1990. The effects of chloroquine on the infectivity of chloroquine-sensitive and -resistant populations of *Plasmodium yoelli nigeriensis* to mosquitoes. *Parasitology* 100: 377-381.
- Ramkaran AE, Peters W, 1969. Infectivity of chloroquine resistant *Plasmodium berghei* to *Anopheles stephensi* enhanced by chloroquine. *Nature* 223: 635-636.
- Schapira A, Schwalbach JFL, 1988. Evaluation of four therapeutic regimens for falciparum malaria in Mozambique, 1986. *Bull World Health Organ* 66: 219-226.
- Strickland GT, Fox E, Sarwar M, Khaliq AA, Macdonald M, 1986. Effects of chloroquine, amodiaquine and pyrimethamine-sulfadoxine on *Plasmodium falciparum* gametocytemia. *Am J Trop Med Hyg* 35: 259-262.

SOUCHES CHLOROQUINORÉSISTANTES DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* INFECTIVITÉ DU VECTEUR ANOPHÉLIEN ET UTILISATION DES ANTIPALUDÉENS

MOLEZ J.F., ROBERT V. TRAPE J.F.

Résumé :

Dans la banlieue de Dakar la transmission palustre est faible et le paludisme est hypoendémique. Des souches de *P. falciparum* résistantes in vivo à la chloroquine y sont rencontrées depuis 1988 (leur proportion se maintient autour de 24% depuis 1992). Cette résistance est de type RI et RII. Des tests de chloroquinosensibilité in vivo ont été réalisés chez 68 sujets selon les critères habituels (traitement à la chloroquine à la dose standard de 25mg/kg, pendant 3 jours). Les frottis sanguins sont effectués à J0, J2, J4, J7 et J14, la densité gamétocytaire est estimée par examen standardisé de 200 champs microscopiques. La prévalence en gamétocytes de *P. falciparum* n'a pas varié chez les souches sensibles (S) et chez les résistantes (R) entre J0 et J2. Par contre, à J4 et J7 chez les souches R elle était le double de celle des souches S et le triple à J14. Entre J7 et J14 seulement 30% des sujets ayant une souche S présentaient des gamétocytes, contre 79% des sujets avec une souche R (93% des sujets ayant une RII présentent une gamétocytémie, contre 59% avec une RI). La densité gamétocytaire à J4, J7 et J14, est plus importante chez les RII que chez les RI et elle est plus importante chez ces derniers que chez les S (à J7 et J14 la moyenne géométrique du nombre de gamétocytes chez les souches S, RI et RII est de 0,7, 2,2 et 12,6 par ml de sang).

Le traitement par la chloroquine n'induit pas de gamétocytogénèse en *P. falciparum* et n'interfère pas avec la transmission une fois les gamétocytes matures en circulation (par contre, un fort taux d'infectivité des souches R est observé chez certains *Plasmodium* de rongeurs après traitement par la chloroquine). Les résultats de la plupart des études sur la chloroquinosensibilité in vivo de *P. falciparum* se concentrent sur la réponse des stades asexués, la gamétocytémie est rarement mentionnée et sa prévalence n'est jamais étudiée séparément de la réponse parasitaire globale. Il est établi que la densité en gamétocytes circulants est le facteur majeur qui conditionne l'infection du vecteur anophélien par l'homme. Nos observations suggèrent que, lorsque dans une population humaine il existe un mélange de souches S et R, le traitement par la chloroquine amène les anophèles à être infectés et à transmettre de préférence les souches R (RI et surtout RII). Ceci nous renvoie au constat effectué en zone de chimiorésistance en Afrique tropicale, peu de temps après l'apparition de souches résistantes, il est classique de voir se répandre les RII et observer celles-ci devenir rapidement dominantes. Ces observations montrent que le test classique de chimiosensibilité in vivo tenant compte de la gamétocytémie, peut fournir des données parasitologiques porteuses d'informations épidémiologiquement importantes. Ces résultats font discuter le traitement de la résistance par la chloroquine seule et ils font apparaître le manque d'un sporonticide pour contrer la dynamique des souches R (surtout les RII) qui serait à utiliser en association avec un schizonticide classique comme la chloroquine.

INTRODUCTION

Au niveau de la banlieue de Dakar, le paludisme est hypoendémique, la transmission palustre est faible et le taux d'infection estimé selon la méthode parasitologique est d'environ 0,6 par personne et par an (TRAPE & al. 1993).

Des souches de *Plasmodium falciparum* résistantes in vivo à la chloroquine y sont rencontrées depuis 1988. La proportion de ces souches a atteint 47,5% en 1990, pour se stabiliser depuis 1992 autour de 24% (TRAPE & al. 1989 ; GAYE & al. 1991 ; GAYE & al. 1993). Cette chloroquinorésistance est de type RI et de Type RII (avec une plus grande prévalence des RII, RIII est exceptionnel).

I. OBJECTIFS

Dans le cadre d'une surveillance continue du taux de chimiorésistance des souches de *Plasmodium falciparum*, chaque année et à la même époque dans la zone urbaine de Pikine, des tests de chloroquinosensibilité in vivo sont réalisés, selon les critères habituels.

II. MÉTHODOLOGIE

Le traitement à la chloroquine est administré à la dose standard de 25mg par kg de poids pendant trois jours. Les frottis sanguins (environ 0,5µl de sang) sont effectués à J0, J2, J4, J7 et J14. Après coloration au Giemsa, la densité gamétocytaire est estimée par examen standardisé de 200 champs microscopiques (TRAPE, 1985).

En 1995, des tests de chloroquinosensibilité in vivo ont été réalisés selon les critères habituels chez 68 sujets (âgés de 02 à 70 ans - moyenne de 19,4 ans).

III. RÉSULTATS

La prévalence en gamétocytes de *Plasmodium falciparum* n'a pas varié chez les souches sensibles (n = 42) et chez les souches résistantes (n = 26) entre J0 et J2. Par contre, à J4 et à J7 la prévalence en gamétocytes chez les souches résistantes était le double de celle des souches sensibles et elle en était le triple à J14. Selon le test exact de FISHER, on obtient : P = 0,038 pour J4 ; p = 0,001 pour J7, et p < 0,001 pour J14.

Ainsi entre J7 et J14, seulement 30% des sujets ayant une souche sensible (S) présentaient des gamétocytes circulants contre 79% des sujets avec une souche résistante (p < 0,001 selon le test exact de Fisher). Chez ces derniers, 93% des sujets ayant une souche de type RII présentaient une gamétocytémie contre 59% des sujets ayant une souche de type RI (p = 0,0048 selon le test exact de Fisher).

La densité gamétocytaire à J4, J7 et J14, est ainsi plus importante chez les RII que chez les RI et plus importante chez ces derniers que chez les S. L'analyse combinée des données obtenues à J7 et J14 montre que la moyenne géométrique du nombre de gamétocytes chez les trois catégories de sujets S, RI et RII est respectivement de 0,7 ; 2,2 et 12,6 par μ l de sang. La comparaison respective S/RI, S/RII et RI/RII, donne respectivement $p = 0,026$; $p < 0,0001$ et $p = 0,0006$ avec le test U de Mann-Whitney.

La réponse thérapeutique au test *in vivo* montre une atténuation de la gamétocytemie avec l'âge (S > RI > RII) avec respectivement 21,8 ; 16,1 et 15,0 ans). Les données obtenues à J7 et J14 chez les enfants de moins de 15 ans ($n = 25$) montre une prévalence et une densité gamétocytaire significativement différente entre les porteurs de souches sensibles et les porteurs de souches résistantes ($p < 0,002$ sur la densité, avec le test de Mann-Whitney). Pour la catégorie des plus de 15 ans ($n = 43$), les résultats sont similaires ($p = 0,002$ selon le test exact de Fisher, et $p = 0,002$ avec le test U de Mann-Whitney).

COMMENTAIRES

Le traitement par la chloroquine ne semble pas perturber la gamétocytogénèse chez *Plasmodium falciparum* (OGH & al. 1995) ni être en mesure d'interférer avec la transmission une fois les gamétocytes matures apparus dans la circulation sanguine (WILKINSON & al. 1976 ; SMALLEY 1977 ; TCHUINKAM & al. 1993).

Par contre, un fort taux d'ineffectivité des souches résistantes a été observé chez *Plasmodium berghei* et *Plasmodium yoelii nigeriensis* après traitement par la chloroquine (RAMKARAN & al., 1969 ; ICHIMORI & al. 1990).

Les résultats de la plupart des études sur la sensibilité de l'hématozoaire à la chloroquine se concentrent sur la réponse des stades asexués à la thérapeutique. La gamétocytemie est rarement mentionnée et elle n'est pas étudiée séparément de la réponse parasitaire globale au test *in vivo*. Dans les zones où *Plasmodium falciparum* est chloroquinorésistant, SCHAPIRA & al. (1988) rapportent une baisse de la gamétocytemie circulante à J7 au Mozambique après traitement à la chloroquine, TRICKLAND & al. (1986) n'ont trouvé aucun effet du traitement sur la gamétocytemie au Penjab.

Bien que les observations sur la gamétocytemie soient difficiles à extrapoler en termes de transmission, il est le facteur majeur qui conditionne l'infection du vecteur anophélien par l'homme (TCHUINKAM & al. 1993 ; BOUDIN & al. 1993). Nos observations suggèrent fortement que dans une population humaine, lorsqu'il existe un mélange de souches sensibles et de souches résistantes RI et RII, l'administration rapide du traitement par la chloroquine amène les moustiques vecteurs à être infectés et à transmettre de préférence les souches chimiorésistantes en particulier celles de type RII plus gamétocytogènes). Ceci nous renvoie au constat effectué en zone de chloroquinorésistance d'Afrique Tropicale. En effet, peu de temps après l'apparition de souches chloroquinorésistantes, il est classique de voir se répandre la résistance de type RII et observer celle-ci devenir rapidement dominante.

Ces observations montrent que le test classique de chloroquinorésistance *in vivo* tenant compte de la gamétocytemie, peut fournir des données parasitologiques porteuses d'informations épidémiologiquement importantes.

Les résultats font discuter la stratégie de traitement des souches de *Plasmodium falciparum* chimiorésistantes par la chloroquine seule. Ils font apparaître le manque flagrant d'un sporonticide pour contrer cette dynamique des souches résistantes (surtout de type RII) qui serait à utiliser en association avec un schizonticide classique comme la chloroquine.

Ce travail a bénéficié d'une subvention du Ministère de la Coopération et du Développement, Paris - France

BIBLIOGRAPHIE

- BOUDIN C., OLIVIER M., MOLEZ J.F., CHIRON J.P. & AMBROISE THOMAS P.
High human infectivity to laboratory-bred *Anopheles gambiae* in a village in Burkina Faso.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1993, 48, 5, 400-706.
- GAYE O., FAYE O. BAH I.B., DIALLO S., DIOUF M., NDIAYE P., NDIAYE A.A. & TRAPE J.F.
Evolution de la chloroquinorésistance en zone urbaine. Résultats d'études menées à Dakar et Pikine.
Ann. Soc. Belge. Med. Trop., 1991, 71, 329-330.
- GAYE O., BABOU I., FAYE O., FALL A., MOLEZ J.F., BAH I.B. & DIALLO S.
Morbidity palustre et efficacité thérapeutique des antipaludéens. Etude menée dans la région de Dakar.
Med. Trop., 1993, 4, 479-485.
- HOGH B., THOMPSON R., HETZEL C., FLECK S.L., KRUSE N.A.A., JONES I., DGEDGE M., BARETTO J. & SINDEN R.E.
Specific and nonspecific responses to *Plasmodium falciparum* blood-stage parasites and observations on the gametocytemia Mozambique.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1995, 52, 50-59.
- ICHIMORI K., CURTIS C.F., & TARGETT G.A.T.
The effects of chloroquine on the infectivity of chloroquine-sensitive and resistant populations of *Plasmodium yoelii nigeriensis* to mosquitoes.
Parasitology, 1990, 100, 377-381.
- RAMKARAN A.E. & PETERS W.
Infectivity of chloroquine resistant *Plasmodium berghei* to *Anopheles stephensi* enhanced by chloroquine.
Nature, 223, 635-636.
- SMALLEY M.E.
Plasmodium falciparum gametocytes : the effect of chloroquine on their development.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1977, 71, 526-529.

- **SCHAPIRA A. & SCHWALBACH J.F.L.**
Evaluation of four therapeutic regimens for falciparum malaria in Mozambique, 1986.
Bull. World Health Org., 1988, **66**, 219-226.
- **STRICKLAND G.T., FOXE E., SARWARM., KHALIQ A.A. & MACDONALD M.**
Effects of chloroquine, amodiaquine and pyrimethamine-sulfadoxine on *Plasmodium falciparum* gametocytemia.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1986, **35**, 259-262.
- **TCHUINKAM T., MULDER B., DECHERING K., VERHAVE J.P., COT M., CARNEVALE P., MEUWISSEN J., ROBERT V.**
Experimental infections of *Anopheles gambiae* with *Plasmodium falciparum* of naturally infected gametocytes carriers in Cameroon; factor influencing the infectivity of mosquitoes.
Trop. Med. Parasitol., 1993, **44**, 271-276.
- **TRAPE J.F.**
Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigation.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1985, **79**, 181-184.
- **TRAPE J.F., LEGROS F., NDIAYE P., KONATE L., BAH I.B., DIALLO S., VERDIER F., HANTINI. & LE BRAS L.**
Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Sénégal.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1989, **83**, 761.
- **TRAPE R.N., NOEYPATIMANONDH S. & GOULD D.L.**
Infectivity of falciparum malaria patients for anopheline mosquitoes before and after chloroquine treatment.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1976, **70**, 306-307.

UN GAMETOCYTOCIDE ASSOCIE AU TRAITEMENT ANTI-PALUDIQUE SCHIZONTICIDE SERA-T-IL BIENTOT NECESSAIRE EN ZONE DE CHIMIORÉSISTANCE ?

Au Sénégal, une étude a récemment fortement suggéré que le traitement par chloroquine pourrait avoir pour conséquence d'augmenter le risque d'infestation anophélienne à partir d'un sujet porteur d'un isolat résistant de *Plasmodium falciparum* (1). En effet, cette étude a montré, chez des malades traités par chloroquine, que si le taux de prévalence des porteurs de gamétocytes était similaire de J0 à J2 quel que soit le niveau de résistance de l'isolat, une différence statistiquement significative s'installait entre J4 et J14. A ce moment, 30 % des porteurs d'isolats de *Plasmodium falciparum* sensibles *in vitro* étaient porteurs de gamétocytes versus 53 % des sujets porteurs d'un isolat RI et 93 % des sujets porteurs d'un isolat RII. Après traitement par chloroquine, le risque de transmission à l'anophèle d'un isolat résistant semble donc être supérieur à celui d'un isolat sensible.

Cette observation sur la gamétocytogénèse des souches résistantes de *Plasmodium falciparum* semble se confirmer dans différentes régions du Sénégal (V. Robert et J-F. Trape, Communication personnelle) où d'autres études sont actuellement en cours. A partir de ces premiers résultats, on ne sait s'il existe une élimination plus efficace des souches RI ou RII ou si cette dynamique est réellement due au fait que les isolats sont plus gamétocytogènes (sous-entendant des modifications génétiques liées à la gamétocytogénèse). Ces remarques nous renvoient au constat effectué dans plusieurs zones de chimiorésistance d'Afrique noire. En effet, peu de temps après l'apparition d'isolats chloroquino-résistants, il est classique de voir se répandre une résistance de type RII et de la voir devenir rapidement dominante. Des observations scientifiques complémentaires menées dans d'autres zones de chimiorésistance d'Afrique noire devraient confirmer la participation de cette dynamique gamétocytaire dans l'extension des isolats résistants de *Plasmodium falciparum*.

Ces remarques épidémiologiques amènent à rediscuter du traitement et du contrôle des souches de *Plasmodium falciparum* chimiorésistantes par un traitement schizonticide seul. L'emploi d'un sporonticide a été envisagé depuis longtemps dans le cas d'une gamétocytémie circulante persistante pour éviter tout risque de transmission plasmodiale chez le vecteur (2, 3, 4). Cette question réapparaît régulièrement dans la littérature, sans jamais avoir été évaluée

ni mise en oeuvre en terme de stratégie. On peut se demander si cette dynamique particulière des isolats chloroquino-résistants de type RII peut être modifiée par l'utilisation d'un gamétocytocide dans le traitement antipalustre. Une évaluation des effets de la chloroquine sur la gamétocytémie des isolats de différents degrés de chimiorésistance est à envisager et des essais de traitement pilote avec un gamétocytocide devraient pouvoir rapidement infirmer ou confirmer la nécessité d'élaborer une nouvelle stratégie de contrôle du paludisme en zone de chimiorésistance. L'utilisation de la primaquine comme gamétocytocide pourrait être envisagée car cette molécule présente un effet suffisant avec 45 mg de primaquine base en dose unique, ou à la dose de 15 mg pendant trois jours associé dans ce cas au traitement de 25 mg sur trois jours par la chloroquine : 10 mg, 10 mg et 5 mg (5, 6). Cette prescription sur trois jours présente l'avantage d'être très bien tolérée, surtout chez les sujets déficients en G6PD réputés sensibles à la primaquine (7).

Une nouvelle stratégie de contrôle des souches résistantes de *Plasmodium falciparum* pourrait être élaborée en fonction des résultats à venir sur la gamétocytogénèse des isolats circulants en zone de chimiorésistance. Dans ce cas, le gamétocytocide envisagé serait à utiliser en association avec le schizonticide employé et conseillé par les autorités sanitaires locales (en général la chloroquine). Cependant, même s'il existe une nécessité d'adapter des stratégies contre cette dynamique épidémiologique de la chloroquino-résistance, toute décision visant à modifier l'utilisation des antipaludéens devra tenir compte de la faisabilité de la stratégie préconisée.

J-F. MOLEZ, O. GAYE

- Travail du Laboratoire de Paludologie (J-F. M., Médecin Parasitologiste et Entomologiste, Chargé de Recherche) du Centre ORSTOM de Dakar, et du Service de Parasitologie (O.G., Maître de Conférence agrégé, de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Dakar, Sénégal.

- Correspondance : J-F. MOLEZ, Laboratoire de Paludologie, Centre ORSTOM de Dakar, BP 1386, Dakar, Sénégal.

- 1 - ROBERT V., MOLEZ J-F., TRAPE J-F. - Gametocytes, chloroquine pressure and the relative advantage of resistant strains of *falciparum* malaria in West Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1996 ; 53 : 350-351.
- 2 - POWELL R.D., BREWER G.J. - Effects of pyrimethamine, chloroguanide and primaquine against exoerythrocytic forms of a strain of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* from Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1967 ; 16 : 693-698.
- 3 - RIECKMANN K.H., Mc NAMARA J.V., FRISCHER H. et Coll. - Gametocytocidal and sporontocidal effects of primaquine and of sulfadiazine with pyrimethamine in a chloroquine resistant strain of *Plasmodium falciparum*. *Bull. WHO* 1968 ; 38 : 625-632.
- 4 - HARINASUTA K.T. - Treatment of drug resistant malaria. In «XIII^e International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Bangkok». Pattaya/Thailand, 1994, (Abstract Vol. 1 / 5-7).
- 5 - WEISS W.R., OLOO A.J., JOHNSON A. et Coll. - Daily primaquine is effective for prophylaxis against *falciparum* malaria in Kenya : comparison with mefloquine, doxycycline and chloroquine plus proguanil. *J. Infect. Dis.* 1995 ; 171 : 1569-1575.
- 6 - WARD S.A., MIHALY G.W., EDWARDS G. et Coll. - Pharmacokinetics of primaquine in man. II. Comparison of acute vs chronic dosage in Thai subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1985 ; 19 : 751-755.
- 7 - CLYDE D.F. - Clinical problems associated with the use of primaquine as a tissue schizontocidal and gametocytocidal drug. *Bull. WHO* 1981 ; 59 : 391-395.