

UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC
THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Discipline : **Biologie Santé**

Ecole Doctorale : **Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé**

Présentée et soutenue publiquement

par

Florie FILLOL

le 19 octobre 2009

**Relation entre l'état nutritionnel et le paludisme
chez les jeunes enfants d'Afrique sub-saharienne
vivant en zone de transmission saisonnière du paludisme**

JURY

Mme C. BRAUN-BRETON , Professeur Université Montpellier II,	Présidente
Mme K. BORK-SIMONDON , Directeur de Recherche, Institut de Recherche pour le Développement,	Directrice de thèse
Mme M. DRAMAIX , Professeur Université Libre de Bruxelles,	Rapporteur
Mr C. ROGIER , Professeur agrégé Université Marseille II,	Rapporteur
Mr Y. MARTIN-PREVEL , Chargé de Recherche, Institut de Recherche pour le Développement,	Examineur
Mr P. PASQUET , Directeur de Recherche, CNRS,	Examineur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Kirsten Bork Simondon sans qui cette thèse n'aurait pu être menée à bien. Je tiens à vous remercier pour m'avoir soutenue dans toutes mes démarches et pour m'avoir conseillée sur les choix que je faisais. Je vous remercie de m'avoir permis de réaliser cette thèse dans les meilleures conditions possibles.

Je remercie Madame Michèle Dramaix et Monsieur Christophe Rogier de me faire l'honneur de juger ce travail et d'en être rapporteurs.

Je remercie Madame Catherine Braun-Breton d'avoir accepté de présider ce jury de thèse.

Je remercie également Monsieur Yves Martin-Prével et Monsieur Patrick Pasquet d'avoir accepté d'être membres du jury.

Un grand merci à Franck Remoué, pour son soutien, son enthousiasme face à mes idées, son dynamisme inégalable, ses précieux conseils et son écoute attentive.

Je souhaite particulièrement remercier Amandine Cournil et Sébastien Pion, pour leur patience, leur rigueur, et leurs enseignements. Merci aussi, pour votre gentillesse, votre bonne humeur et votre soutien. Merci d'avoir été là tout au long de ces trois ans...

Je tiens à remercier Cécile Cames qui m'a fait découvrir « la réalité du terrain ». Merci pour ton soutien, tes conseils, et ta force de caractère. Cela m'a aidée quelque fois à me surpasser...

Merci à toute l'ex-équipe UR-24 : merci à Anne d'avoir « ouvert la voie », merci à Sylvie pour sa bonne humeur et son dynamisme à toute épreuve, merci à Marie Rossignol, Michel Boussinesq, François Mouchet, Denis Boulanger, Annick Fontbonne et François Simondon.

Merci à Yannis pour ses intermèdes quotidiens et son intérêt sincère.

Merci à la chaleureuse équipe dakaroise : Amady, Tofène, Jules, Pape.

Un merci particulier à Jean Biram, sans qui l'étude immuno-épidémiologique n'aurait pu être réalisée.

Merci à mes amis qui m'ont guidée sans le savoir. Merci à Yunne, Olivier, Nathalie, Irène, Daniel...

Merci à mes parents (tous les quatre !) pour m'avoir toujours soutenue et supportée dans mes choix et mes décisions...

Ma dernière pensée est pour celui qui me soutient jour après jour... Merci, Pierre d'avoir compris mes choix et de m'aider à les réaliser...

Table des matières

Introduction générale	11
Première partie : Etat des connaissances	13
Chapitre 1 : La malnutrition des enfants	15
1.1 Evolution des hypothèses sur les causes de la malnutrition	17
1.1.1 Le « kwashiorkor ».....	17
1.1.2 La carence en protéines : unique cause de malnutrition.....	17
1.1.3 Evolution vers une malnutrition protéino-énergétique.....	18
1.1.4 La malnutrition pluri-carentielle.....	19
1.2 Les différentes formes de malnutrition	20
1.2.1 Les formes extrêmes de malnutrition	20
1.2.1.1 Le kwashiorkor	21
1.2.1.2 Le marasme	21
1.2.2 Les formes intermédiaires	21
1.2.2.1 L'insuffisance pondérale	21
1.2.2.2 Le retard de croissance	21
1.2.2.3 L'émaciation	22
1.3 Evaluation de l'état nutritionnel	22
1.3.1 Examen physique et signes cliniques.....	22
1.3.2 Anthropométrie	23
1.3.2.1 Les indices anthropométriques	24
1.3.2.2 Interprétation des indices anthropométriques	25
1.4 Facteurs influençant l'état nutritionnel	29
1.4.1 Le facteur alimentaire.....	30
1.4.2 L'influence des infections.....	32
1.4.3 Etiologie des différentes formes de malnutrition	32
1.4.3.1 Le retard de croissance staturale	33
1.4.3.2 L'émaciation	33
1.5 Conséquences de la malnutrition des enfants	34
1.5.1 Influence de la malnutrition sur l'immunité	34
1.5.1.1 Malnutrition protéino-énergétique (MPE) et immunité	35
1.5.1.2 Carence en micronutriments et immunité.....	36
1.5.2 Influence de la malnutrition sur la mortalité	38
1.5.3 Influence de la malnutrition sur développement psychomoteur de l'enfant.	39
1.6 La malnutrition : problème mondial de santé publique	40
1.6.1 L'insuffisance pondérale.	41

1.6.2	Le retard de croissance.....	42
1.6.3	L'émaciation.....	42
1.6.4	Charge globale de morbidité et risque de décès liés à la malnutrition.....	43
1.6.5	Malnutrition et développement socio-économique des pays.....	44
 Chapitre 2 : Le paludisme		47
 2.1 Epidémiologie du paludisme		49
2.2 Le pathogène : Plasmodium falciparum		51
2.2.1	La phase asexuée chez l'Homme.....	51
2.2.1.1	Le cycle exo-érythrocytaire.....	51
2.2.1.2	Le cycle érythrocytaire.....	52
2.2.2	La phase sexuée chez l'anophèle.....	53
2.3 Pathogénèse des différentes formes de paludisme à Plasmodium falciparum		54
2.3.1	Le paludisme de primo-invasion.....	54
2.3.2	Accès simple.....	54
2.3.3	Accès grave.....	55
2.3.3.1	Anémie sévère.....	55
2.3.3.2	Accès pernicieux ou neuropaludisme.....	56
2.4 Les vecteurs de Plasmodium falciparum		58
2.5 Principales stratégies de lutte contre le paludisme		59
2.5.1	Réduction de la charge parasitaire.....	60
2.5.1.1	Le diagnostic.....	61
2.5.1.2	Le traitement.....	64
2.5.1.3	La prophylaxie médicamenteuse.....	65
2.5.2	Réduction des populations de vecteurs et du contact homme-vecteur.....	69
2.5.3	Les vaccins.....	72
2.5.3.1	Vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire.....	72
2.5.3.2	Vaccins dirigés contre les stades sanguins asexués.....	73
2.5.3.3	Vaccins dirigés contre les stades sanguins sexués.....	74
2.6 Impact du paludisme sur le développement		74
2.6.1	Paludisme et coût économique pour les sociétés.....	74
2.6.2	Paludisme et coût économique pour les ménages.....	75
 Chapitre 3 : Interaction malnutrition-paludisme		77
 3.1 Impact de la morbidité palustre sur la malnutrition		79
3.1.1	Les études d'observation.....	79
3.1.2	Les études d'intervention.....	80

3.1.2.1 Impact de la chimioprophylaxie sur l'état nutritionnel	80
3.1.2.2 Impact de l'utilisation de moustiquaires imprégnées sur l'état nutritionnel	85
3.1.2.3 Impact du traitement préventif intermittent saisonnier sur l'état nutritionnel	85
3.2 Impact de la malnutrition sur la morbidité palustre.....	87
3.2.1 Malnutrition et diminution du risque d'infection palustre	87
3.2.2 Malnutrition et augmentation du risque d'infection palustre	92
3.2.3 Absence d'association entre malnutrition et paludisme	94
3.2.4 Comment conclure ? Importance des discordances et biais méthodologiques	95
3.3 Immunité et interaction malnutrition-paludisme chez l'enfant.....	101
3.3.1 L'immunité anti-palustre	101
3.3.1.1 Immunité innée	102
3.3.1.2 Immunité acquise et spécifique	102
3.3.2 Impact de la malnutrition sur l'immunité anti-paludisme.....	107
Chapitre 4 : Problématique et hypothèses de recherche.....	111
Deuxième partie : Travaux menés et résultats.....	117
Chapitre 1 : Contexte des travaux	119
1.1 Présentation de la zone d'étude de Niakhar.....	121
1.1.1 Données démographiques	122
1.1.2 Alimentation et état nutritionnel des enfants de Niakhar	123
1.1.3 Épidémiologie du paludisme dans la zone	124
1.2 Présentation de l'intervention TPI	125
1.2.1 Efficacité du TPI : objectif principal de l'essai	125
1.2.2 La nutrition : un objectif secondaire de l'intervention	127
Chapitre 2 : Impact de la prise en charge rapide des crises et des suspicions de crises palustres sur la croissance en taille des enfants ..	129
2.1 Présentation de l'étude	131
2.2 Résumé et discussion de l'étude	149

Chapitre 3 : Influence de la malnutrition des enfants en début d'hivernage sur la prédisposition au paludisme	153
3.1 <i>Présentation de l'étude et des méthodes utilisées</i>	155
3.2 <i>Résumé et discussion de l'étude</i>	167
Chapitre 4 : Impact de la malnutrition des enfants sur la réponse immune spécifique à <i>Plasmodium falciparum</i>.	173
4.1 <i>Présentation de l'étude</i>	175
4.2 <i>Résumé et discussion de l'étude</i>	189
Troisième partie : Synthèse et discussion générale.....	193
Références bibliographie	211

Table des figures

Figure 1: Cadre conceptuel des causes de malnutrition et de morbidité. Source UNICEF, 1997 ...	30
Figure 2: Prévalence de l'insuffisance pondérale des enfants de moins de 5 ans par région (2000-2007, NCHS/WHO/CDC reference population). Source : UNICEF, www.childinfo.org	41
Figure 3: Prévalence du retard de croissance des enfants de moins de 5 ans par pays.....	42
Figure 4: Cycle intergénérationnel de la malnutrition. Source: FAO, 2007.....	45
Figure 5: Répartition mondiale des zones impaludées. Source : WHO, 2008	49
Figure 6: Cycle évolutif du <i>Plasmodium</i> . Source: Greenwood, JCI, 2008.....	51
Figure 7: Objectifs, résultats et activités de la lutte antipaludique.	60
Figure 8: Situation géographique de la zone de Niakhar. Source: IRD	121
Figure 9: Découpage de la zone de Niakhar en villages. Source: IRD	121
Figure 10: Conception de l'intervention	126
Figure 11: Sélection des enfants inclus dans l'analyse	133
Figure 12: Effet de l'intervention TPI sur les déterminants de la malnutrition	198
Figure 13: Schéma récapitulatif des résultats et hypothèses.....	204
Figure 14: Implication de l'interleukine 21 dans la réponse immunitaire.....	205
Figure 15: Régulation de la transcription génétique de l'interleukine 21. Source: Jetten <i>et al.</i> , Nucl Recept Signal, 2009.....	206

Table des tableaux

Tableau 1 : Principaux signes cliniques des deux formes extrêmes de malnutrition	23
Tableau 2: Modes de calcul des différents indices nutritionnels	27
Tableau 3 : Odds ratios de la mortalité toutes causes et des causes de décès des enfants en fonction des indices WAZ, HAZ et WHZ. (Source : Black <i>et al</i> , The Lancet Series, 2008, vol 371, issue 9608)	44
Tableau 4: Synthèse des études évaluant l'impact de la prévention du paludisme sur l'état nutritionnel	81
Tableau 5: Différences méthodologiques et résultat principal des études épidémiologiques concernant l'estimation de l'effet de la malnutrition sur la prédisposition au paludisme	97
Tableau 6: Prévalence de la malnutrition des enfants de moins de cinq ans vivant dans le centre du Sénégal en 1992, à Fatick en 2000 et 2005 et dans la zone de Niakhar en 2009 selon deux références internationales.	124
Tableau 7: Indices nutritionnels et prévalence des différents types de malnutrition des 874 enfants inclus dans l'étude rebond en fonction de la population de références	169
Tableau 8: Prévalence d'au moins une crise palustre en fonction de la malnutrition des enfants selon les standards OMS 2006	169

Introduction générale

A l'heure actuelle, de nombreux efforts sont mis en œuvre par la communauté internationale dans le but de faire reculer l'extrême pauvreté dans le monde d'ici à 2015. Pour cela, l'une des priorités des Nations Unies est d'améliorer l'état de santé des populations les plus défavorisées et les plus vulnérables. Ainsi, le contrôle du paludisme et la réduction de la faim dans le monde font partie des huit Objectifs du Millénaire pour le Développement adoptés en septembre 2000 lors du Sommet du Millénaire au siège des Nations Unies.

La coexistence des infections et de la malnutrition dans les pays en développement représente un véritable fardeau pour les populations en termes de morbidité et de mortalité, particulièrement chez les enfants de moins de cinq ans.

Combattre la faim et les maladies qui sévissent dans ces pays nécessite de rompre le cercle vicieux établi dans lequel malnutrition/infections et pauvreté s'entretiennent mutuellement.

Afin de mettre en place des interventions réduisant efficacement la morbidité des enfants, il est indispensable de comprendre l'interaction entre infections et malnutrition.

Parmi les infections qui affectent le plus lourdement les enfants de moins de cinq ans, le paludisme représente un véritable fléau en Afrique sub-saharienne. L'Organisation Mondiale pour la santé (OMS) estime qu'en 2006, le paludisme a été la cause directe d'environ 881 000 décès, dont 91% se sont produits en Afrique et 85% chez les enfants de moins de cinq ans.

De son côté, la malnutrition des enfants de moins de cinq ans (définie par l'insuffisance pondérale), serait la cause sous-jacente d'environ 50% des décès liés aux infections les plus communes chez les enfants des pays en développement (diarrhées, rougeole, pneumonie, et paludisme) (Caulfield *et al.*, 2004).

La malnutrition et le paludisme sont fréquemment rencontrés en Afrique sub-saharienne et sont responsables d'une forte mortalité chez les enfants de moins de cinq ans. Par ailleurs, les séquelles qui résultent de ces deux affections constituent un obstacle majeur au développement des enfants. En effet, paludisme et malnutrition sont tous deux impliqués dans l'altération des capacités cognitives des enfants, leur difficulté d'apprentissage et la diminution de leurs performances scolaires (Branca *et al.*, 2002 ; Fernando *et al.*, 2003). De plus, les individus ayant souffert de paludisme et de malnutrition dans leur enfance présentent une moins bonne résistance physique au travail (Martorell *et al.*, 1992). Ces conséquences, associées aux pertes humaines, entravent considérablement le développement des sociétés.

Il s'avère essentiel dans la lutte contre la pauvreté de comprendre comment la malnutrition et le paludisme interagissent afin d'optimiser les interventions de santé et de diminuer efficacement et durablement la morbidité et la mortalité des enfants les plus vulnérables.

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse ont pour objectif d'étudier l'interaction malnutrition/paludisme par une approche épidémiologique et immuno-épidémiologique.

La première partie du présent manuscrit est consacrée à l'état des connaissances concernant la malnutrition et le paludisme, conclue par un chapitre exposant les hypothèses et les objectifs de recherche.

La deuxième partie rend compte des publications et des études réalisées au cours de cette thèse.

Enfin la troisième et dernière partie présente une synthèse et une discussion des principaux résultats ainsi que les perspectives proposant de nouvelles pistes de recherches.

Première partie : Etat des connaissances

Chapitre 1 : La malnutrition des enfants

1.1 Evolution des hypothèses sur les causes de la malnutrition

Bien que la malnutrition existe probablement depuis l'apparition de l'homme, les premières descriptions de cas cliniques sont assez récentes et remontent à la fin du XIX^{ème} siècle. En 1865, le premier tableau clinique de malnutrition est dressé par deux médecins, l'un mexicain et l'autre français qui officient alors dans un village au Mexique. Leur description relatant la présence d'œdèmes correspond à ce qui sera plus tard défini comme le kwashiorkor.

Alors que la malnutrition devient moins fréquente en Europe, les cas de malnutrition grave retiennent l'attention des médecins travaillant dans les colonies. En 1913, le médecin Guillon appartenant au Corps de Santé Colonial basé à l'Annam, futur Vietnam, observe la présence d'œdèmes plus ou moins généralisés qu'il nomme « la bouffissure d'Annam ». Toutefois la cause de cette pathologie reste inexpliquée et les médecins supposent que les œdèmes sont une conséquence d'ankylostomes. C'est en 1926, que Normet, autre médecin du Corps de Santé Colonial, démontre que cet état pathologique, comparable à celui observé par temps de disettes en Europe, est en fait associé à une carence protéique. A la même époque des syndromes voisins sont décrits par les médecins coloniaux en Afrique aussi bien au Cameroun qu'au Niger.

1.1.1 Le « kwashiorkor »

En 1933, alors que Cicely Williams débute sa carrière de pédiatre en Côte d'Or (actuel Ghana), elle décrit précisément, pour la première fois dans une publication, les œdèmes qu'elle observe chez les enfants (Williams, 1983). Cette première description clinique met l'accent sur les différences entre les lésions cutanées qu'elle observe et celles associées à la pellagre. Toutefois au sein de la communauté scientifique, la confusion entre pellagre infantile et kwashiorkor perdurera jusque dans les années 50. C'est en 1935, dans un deuxième article que Cicely Williams attribue au tableau clinique décrit le terme de kwashiorkor. Ce terme vient de la langue Ashanti du Ghana et signifie littéralement l'enfant (kwashi) rouge (orkor) mais est connu des populations pour être la « maladie de l'enfant sevré quand le cadet est né ».

1.1.2 La carence en protéines : unique cause de malnutrition

Au cours de la Seconde Guerre mondiale, de très nombreux cas de malnutrition sont observés chez les prisonniers et parmi les populations des pays sous-développés où les armées occidentales sont appelées à stationner ou à transiter. L'opinion internationale est alors très sensibilisée aux problèmes de sous-alimentation. L'Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation (FAO) est fondée juste après la fin de la Seconde Guerre mondiale. Elle charge alors les docteurs Brock et Autret de faire le point

de la situation alimentaire de l'Afrique. Après deux mois d'investigation sur le terrain, ils rédigent un rapport intitulé « Le kwashiorkor en Afrique » (Brock *et al.*, 1952). Ce rapport révèle que le kwashiorkor est très répandu en Afrique (en tenant compte de ses formes mineures) et suggère que cette pathologie résulterait essentiellement d'un régime pauvre en protéines. Les auteurs utilisent alors le terme de kwashiorkor de manière générale pour définir l'état d'enfants présentant des signes cliniques très divers comme par exemple une décoloration des cheveux ou des troubles cutanés. Cette définition de cas imprécise rend excessif le diagnostic de carence en protéine appliqué très largement à tous les états de malnutrition observés dans les pays pauvres. De plus ce rapport surestime grandement les besoins en protéines de l'enfant. En 1954, le kwashiorkor est reconnu comme maladie nutritionnelle (Trowell *et al.*, 1955).

De ces constatations naît le concept de programmes d'aide alimentaire visant à corriger les insuffisances d'apport en protéines par différents moyens allant de la distribution de suppléments de lait en poudre au développement de programmes de cultures vivrières à haute teneur protéique.

Toutefois, à cette même période, Gomez, médecin mexicain, établit une classification de la malnutrition chez les enfants âgés de 1 à 4 ans en utilisant comme critère le poids pour un âge donné (Gomez *et al.*, 1952). Cette classification distingue trois degrés de malnutrition mais ne tient compte ni de la taille ni de la durée de l'état de malnutrition des enfants.

1.1.3 Evolution vers une malnutrition protéino-énergétique

Dans les années 60, certaines études contestent le fait que le kwashiorkor soit associé exclusivement à une carence protéique. En effet, deux études menées en Jamaïque montrent que la rapidité de guérison dépend davantage des apports en calories que des apports en protéines (Waterlow, 1961; Ashworth *et al.*, 1968). Cette observation remet en cause l'hypothèse avancée par Brock et Autret selon laquelle les carences en protéines sont à l'origine de la plupart des cas de dénutrition.

Lors de leur sixième rapport publié en 1962, le comité mixte FAO/OMS d'experts de la nutrition adopte la terminologie de « malnutrition protéino-calorique » ou MPC pour qualifier les différentes formes de malnutrition observées chez l'enfant et le nourrisson (FAO, 1962).

En 1971, le huitième rapport du comité d'experts de la nutrition établit une classification simplifiée permettant de différencier les formes de malnutrition le plus fréquemment observées sur le terrain (FAO, 1971). Celle-ci est basée à la fois sur le poids, le rapport poids pour taille et la présence d'œdèmes. La définition du kwashiorkor implique dès lors la présence d'œdèmes comme critère indispensable pour le diagnostic. Le marasme nutritionnel est défini comme autre forme de malnutrition sévère, se caractérisant cliniquement par un amaigrissement très important sans œdème, avec disparition du tissu graisseux sous-cutané, un visage émacié et des yeux enfoncés dans les orbites. Ce

même rapport souligne également l'importance de prendre en compte le statut en taille des enfants pour évaluer le retard de croissance, indicateur de la durée de la malnutrition.

En 1972, Waterlow publie une nouvelle classification basée, non plus sur le rapport poids pour âge uniquement comme le suggérait Gomez, mais sur les rapports poids pour taille et taille pour âge (Waterlow, 1972).

Progressivement le terme de malnutrition protéique est abandonné en faveur de celui de malnutrition protéino-calorique puis de malnutrition protéino-énergétique.

De cette période naît également une nouvelle hypothèse selon laquelle les infections sont impliquées dans l'apparition ou l'aggravation de la malnutrition (Scrimshaw *et al.*, 1968). En effet, lors de l'infection, divers processus biochimiques, métaboliques et hormonaux produisent un effet délétère sur l'état nutritionnel en modifiant l'équilibre entre apports et besoins (Beisel, 1977). Cependant il est difficile de démontrer que des épisodes infectieux exercent un effet à long terme sur l'état nutritionnel des enfants. En 1990, une méta-analyse souligne le fait que comparer le gain de poids d'enfants pendant des intervalles de temps avec et sans épisodes infectieux ne permet pas d'établir si l'effet des infections sur la croissance en taille est transitoire ou durable (Briend, 1990). Bien que les épisodes infectieux induisent souvent anorexie et perte de poids, il semble que la dégradation de l'état nutritionnel observée soit transitoire et qu'après l'épisode infectieux, l'enfant retrouve progressivement le même poids que les enfants qui n'ont pas été malades. Ces observations conduisent alors à modérer le rôle des infections dans la malnutrition, et bien que les programmes et les campagnes de vaccination permettent de diminuer fortement la mortalité des enfants de moins de cinq ans, il semble évident que leur exécution ne peut permettre d'éliminer le problème de la malnutrition sans avoir recours à une amélioration du régime alimentaire.

1.1.4 La malnutrition pluri-carentielle

Dans les années 80, le concept de malnutrition protéino-énergétique est à son tour remis en question face à l'inefficacité relative des programmes nutritionnels entrepris dans les années 70 se limitant souvent à satisfaire soit les besoins en protéines soit ceux en énergie, sans autre ambition (WHO, 1976).

La déficience protéino-énergétique comme cause exclusive se révèle finalement être une perception simpliste de problème de la malnutrition des enfants.

Avec une attention particulière portée au retard de croissance, certaines études ont cherché à améliorer le statut en taille des enfants par la supplémentation en nutriments et micronutriments tels que le fer ou le zinc (Rajalakshmi *et al.*, 1973 ; Pereira *et al.*, 1978; Khanum *et al.*, 1988).

En 1991, Golden montre qu'un apport insuffisant de certains nutriments peut influencer la croissance de l'enfant sans même provoquer une quelconque manifestation clinique (Golden, 1991).

On peut envisager que seuls les programmes s'efforçant de fournir les besoins nutritionnels dans leur totalité et notamment les micronutriments, outre les besoins en protéines et/ou en énergie, pourraient avoir un impact préventif ou curatif perceptible dans la lutte contre la malnutrition de l'enfant. Les concepts dans ce domaine ont beaucoup évolués et, actuellement, le terme de malnutrition pluri-carencielle ou simplement de malnutrition semble plus adapté que celui trop restrictif de malnutrition protéino-énergétique.

1.2 Les différentes formes de malnutrition

Le terme de malnutrition est fréquemment employé seul, mais de manière impropre pour désigner une dénutrition. Selon l'OMS, la malnutrition se définit comme « un état pathologique résultant de la carence ou de l'excès, relatif ou absolu, d'un ou plusieurs nutriments essentiels, que cet état se manifeste cliniquement ou ne soit décelable que par des analyses biochimiques, anthropométriques ou physiologiques ». Cette définition distingue donc plusieurs aspects de la malnutrition et plusieurs types de diagnostic.

L'expression malnutrition "protéino-énergétique" désigne divers syndromes caractérisés avant tout par un arrêt ou un retard de la croissance chez les enfants, qu'on appelle aussi syndrome polycarenciel et, dans les formes extrêmes, marasme ou kwashiorkor. Toutefois on distingue également les malnutritions par carence en micronutriments. Ainsi, une carence en fer peut entraîner une anémie nutritionnelle, celle en iode, le goitre ou le crétinisme et un manque sévère de vitamine A peut provoquer la cécité ou la mort. Malheureusement, il n'est pas rare que les enfants souffrent de plusieurs de ces carences à la fois.

Les premières victimes de la malnutrition sont les nourrissons et les enfants en bas âge, car leurs besoins en nutriments sont élevés par rapport à leur masse corporelle et ils sont particulièrement exposés aux maladies infectieuses.

Le terme général de malnutrition est adopté dans le présent manuscrit pour décrire les formes intermédiaires de malnutrition s'accompagnant souvent de carences en micronutriments. Les formes extrêmes dites « cliniques » (kwashiorkor et marasme) n'ont pas été observées dans nos études et ne sont donc pas considérées dans les travaux présentés.

1.2.1 Les formes extrêmes de malnutrition

Le kwashiorkor et le marasme sont les formes extrêmes de la malnutrition et représentent l'achèvement d'un processus plus ou moins long au cours duquel l'état nutritionnel de l'enfant va progressivement se dégrader en passant de formes légères de malnutrition, à des formes modérées puis sévères. Ainsi c'est la non prise en charge des malnutritions intermédiaires qui aboutit aux formes graves et souvent fatales de la malnutrition.

1.2.1.1 Le kwashiorkor

Le kwashiorkor ou œdème infantile atteint le plus souvent les enfants âgés de un à trois ans, en période de sevrage. Cette forme grave de malnutrition est caractéristique par la présence d'œdèmes localisés aux mains, aux pieds et au visage. Il existe également une dépigmentation de la peau avec desquamation. D'autres signes peuvent être présents : altération des cheveux, hépatomégalie due à une stéatose hépatique, mais aussi atteinte muqueuse, modification du comportement et refus de la nourriture.

1.2.1.2 Le marasme

Le marasme se caractérise par un amaigrissement très important entraînant une fonte du tissu graisseux sous-cutané ainsi que du tissu musculaire. Le visage a un aspect simiesque caractéristique, les yeux sont enfoncés dans leurs orbites et l'enfant présente généralement une alopécie. Toutefois l'appétit est conservé et le comportement reste actif.

Dans ces deux formes extrêmes de malnutrition, l'arrêt de la croissance de l'enfant est total.

1.2.2 Les formes intermédiaires

Les formes intermédiaires représentent les premiers stades du processus qui aboutit aux formes extrêmes de malnutrition. Ces formes intermédiaires peuvent être légères, modérées ou sévères. Dans les pays en développement en proie à de graves conflits ou crises alimentaires, il n'est pas rare que les enfants souffrent à la fois des trois formes intermédiaires de malnutrition souvent associées à des carences en micronutriments.

1.2.2.1 L'insuffisance pondérale

L'insuffisance pondérale est caractérisée par un faible poids de l'enfant par rapport à son âge. Il est l'indicateur permettant d'évaluer une des cibles du premier Objectif du Millénaire pour le Développement, à savoir : diminuer de moitié le nombre de personnes souffrant de la faim d'ici 2015 (ONU, 2009). L'insuffisance pondérale est un indicateur composite qui reflète à la fois et sans les différencier le retard de croissance et l'émaciation. L'insuffisance pondérale n'est pas automatiquement synonyme de maigreur, car si l'enfant présente un retard statural important alors son poids sera de fait inférieur à celui de la référence sans toutefois que l'enfant semble sous-alimenté. L'insuffisance pondérale représente de manière globale à la fois la malnutrition chronique et la malnutrition aiguë de l'enfant.

1.2.2.2 Le retard de croissance

Une taille trop petite pour un âge donné est la manifestation d'un retard de croissance encore appelé retard statural. Le retard de croissance est considéré comme un indicateur

d'une malnutrition chronique qui s'inscrit dans la durée. La diminution de la vitesse de croissance aboutissant au retard statural se met en place dès les premiers mois de vie et le retard de croissance est en général constitué avant l'âge de deux ans (Martorell *et al.*, 1986).

1.2.2.3 L'émaciation

L'émaciation est définie comme un poids de l'enfant trop faible par rapport à sa taille. Cet indicateur est le reflet de la situation nutritionnelle contemporaine au moment de la mesure. Bien que l'émaciation puisse survenir à tout moment de l'enfance et du développement de l'enfant, la prévalence la plus élevée est en général constatée chez les enfants âgés de un à deux ans. Dans les pays en développement subissant de fortes variations saisonnières de la pluviométrie et donc des récoltes, l'émaciation est souvent associée à la saisonnalité (Simondon KB *et al.*, 1993).

1.3 Evaluation de l'état nutritionnel

L'évaluation de l'état nutritionnel peut avoir différents objectifs tels que l'étude épidémiologique de la malnutrition ou la sélection d'enfants en vue d'une intervention. En fonction de ces objectifs les méthodes d'appréciation de la malnutrition sont différentes. Ainsi, si l'étude est au niveau d'une population, l'indicateur épidémiologique recherché sera le plus souvent la prévalence : proportion à un instant donné d'individus malnutris rapportée à la population. S'il s'agit d'identifier les individus devant bénéficier d'une intervention, l'indicateur sera alors l'incidence : nombre de nouveaux cas (= individus malnutris) observés pendant une période donnée et pour une population déterminée.

1.3.1 Examen physique et signes cliniques

Les formes extrêmes de malnutrition présentent des signes cliniques distincts qui permettent de les différencier sans toutefois garantie de spécificité (tableau 1). Certains signes cliniques, dus à des facteurs étrangers à la nutrition sont « franchement équivoques » (Jelliffe, 1969). Contrairement aux formes intermédiaires, le recours à l'anthropométrie n'est pas indispensable dans le diagnostic des formes extrêmes.

Tableau 1 : Principaux signes cliniques des deux formes extrêmes de malnutrition

Zone corporelle	Kwashiorkor	Marasme
Cheveux	Décolorés, raréfiés, s'arrachant facilement	Alopécie, cheveux fins
Tissus sous cutanés	Œdèmes débutant au niveau des chevilles et du dessus du pied (signe du godet) puis des mains et du visage (faciès lunaire)	Pas d'œdèmes
		Fonte du panicule adipeux
Musculature	Fonte moindre masquée par les œdèmes	Fonte musculaire importante (située surtout au niveau des fessiers)
Peau	Peau craquelée, écaillée au niveau des fesses et des jambes	Fripée, parcheminée
Organes internes	Stéatose hépatique (hépatomégalie)	
Comportement	Enfant apathique : semble coupé du monde, facilement irritable	

1.3.2 Anthropométrie

Les différentes formes de malnutrition peuvent être décelées par un examen clinique, biologique ou anthropométrique. Cependant, les techniques anthropométriques demeurent les plus couramment utilisées, notamment pour la détection des formes légères et modérées de malnutrition. Ce sont d'ailleurs bien souvent les seules techniques possibles sur le terrain en population générale.

Le but des mesures anthropométriques est d'apprécier par l'intermédiaire de mensurations corporelles, les modifications morphologiques. Les mesures anthropométriques employées pour estimer la masse corporelle et détecter les problèmes de croissance, souvent en combinaison avec l'âge, permettent d'élaborer certains indices pour décrire l'état nutritionnel des individus ou des populations. L'utilisation des méthodes anthropométriques dans les enquêtes nutritionnelles repose sur l'hypothèse que tout écart entre une mesure anthropométrique observée et les normes de référence est attribuable à la malnutrition par carence alimentaire. Mais cette hypothèse est fautive dans un certain nombre de cas car l'état nutritionnel d'un enfant est également conditionné par d'autres affections que la carence alimentaire telles que les infections virales, bactériennes ou parasitaires.

Ces indices peuvent ou non dépendre de l'âge. Les indices les plus couramment utilisés sont le poids-pour-âge, la taille-pour-âge et le poids-pour-taille. Pour évaluer la composition corporelle, on mesure l'épaisseur des plis cutanés tels que les plis cutanés tricipitaux, iliaques ou sous-scapulaires et également le périmètre brachial.

L'interprétation de ces indices selon des tables de référence permet d'obtenir des informations sur l'état nutritionnel des individus.

1.3.2.1 Les indices anthropométriques

i. L'indice poids en fonction de l'âge (poids-âge)

Cet indice compare le poids de l'enfant au poids de référence pour son âge. Il apprécie les déficits ou les excès pondéraux et reflète l'insuffisance pondérale. Cet indice a longtemps été le seul utilisé car la mesure du poids est simple et reproductible. Son utilisation est suffisamment juste lorsqu'il s'agit d'une étude longitudinale car il est possible de se référer aux mesures antérieures. En cas d'étude transversale, un diagnostic uniquement basé sur ce critère ne tient pas compte des disparités de taille entre individus de même âge. L'indice poids-pour-âge peut alors conduire à un diagnostic erroné quand il s'agit d'une dénutrition actuelle ou aiguë. Le rapport poids/âge dépend à la fois de la taille de l'enfant (taille/âge) et de son poids (poids/taille), ce qui rend son interprétation difficile.

ii. L'indice poids en fonction de la taille (poids-taille)

L'indice poids-taille compare le poids de l'enfant au poids de référence pour sa taille. En cas de retard de croissance, cette comparaison se fait en réalité avec des enfants de même taille mais plus jeunes. Cet indice apprécie le degré de maigreur ou d'obésité. En d'autres termes, il rend compte d'un état harmonieux entre le poids et la taille, c'est-à-dire de la silhouette corporelle. Il permet de diagnostiquer facilement une dénutrition aiguë, contemporaine à la mesure, sans se préoccuper d'une estimation correcte de l'âge ni des antécédents nutritionnels. Une baisse de l'indice poids-taille traduit souvent une perte de poids rapide consécutive à une diminution brutale de la ration alimentaire. Pour cette raison, on présente souvent cet indice comme un indicateur de « malnutrition aiguë ».

iii. L'indice taille en fonction de l'âge (taille-âge)

L'indice taille-âge compare la taille de l'enfant à la taille de référence pour son âge. Il permet d'identifier une situation nutritionnelle antérieure, ayant entraîné une atteinte de croissance linéaire. C'est un indicateur temporel de déficits ou d'atteintes cumulés, voire chroniques qui se sont répercutés sur la croissance. L'indice taille-âge semble être le plus sensible aux variations à long terme de l'état nutritionnel. Dans la plupart des pays en développement, la prévalence du retard de croissance commence à augmenter à partir de 3 mois. Ensuite le processus du retard de croissance se ralentit vers l'âge de trois ans après quoi la taille moyenne évolue parallèlement à la courbe de référence (OMS, 1995). Dans les zones de fortes prévalences, l'âge de l'enfant modifie donc l'interprétation du rapport taille/âge. Pour les enfants les plus jeunes (moins de deux à trois ans), un rapport taille/âge faible signifie probablement que l'enfant « ne grandit pas » ou présente

un retard de croissance. Pour les enfants plus âgés, il signifie que leur croissance a été retardée.

L'indice taille/âge est souvent présenté comme indicateur d'une « malnutrition chronique » engendrant un retard de croissance ou retard statural, ce qui semble indiquer qu'une mauvaise alimentation ou une consommation insuffisante en est la cause. Cette expression n'indique pas si le déficit est associé à un événement passé ou à un processus à long terme se poursuivant encore.

Les termes « malnutrition aiguë » et « malnutrition chronique » prêtent à confusion car ils laissent croire que le caractère aigu ou chronique d'une malnutrition est le seul facteur qui influence la croissance respective en poids et en taille. Bien que ces termes permettent de qualifier de façon plus explicite les différentes formes de malnutrition, il est préférable d'utiliser des termes descriptifs pour désigner les enfants ayant un faible indice poids-taille ou un faible indice taille-âge, sans préjuger du caractère aigu ou chronique de leur dénutrition. Ainsi, l'emploi des termes « retard de croissance » et « émaciation » ou « maigreur » est préférable aux expressions « malnutrition chronique » et « malnutrition aiguë ».

1.3.2.2 Interprétation des indices anthropométriques

Bien que reconnus et utilisés de façon unanime, les indices anthropométriques dans la détection de la malnutrition sont parfois sujets à controverse (Gorstein *et al.*, 1994 ; de Almeida *et al.*, 1999; Tonglet *et al.*, 1999; Ojo *et al.*, 2000; Nube, 2001; Oyhenart *et al.*, 2005)}. L'interprétation des indices anthropométriques dépend fortement du choix des tables de références, du mode d'expression des indices et du seuil choisi.

i. Classification et populations de référence

Les mesures anthropométriques recueillies lors des enquêtes sont habituellement comparées à celles de populations de références.

Les premières références ou standards de Harvard, ont été établies en 1959 par Stuart et Stevenson. La classification de Gomez, largement utilisée jusqu'au début des années 70, est exprimée en pourcentage des standards de Harvard et permet d'établir trois degrés de malnutrition (Gomez *et al.*, 1952). Selon cette classification, la malnutrition sévère, modérée ou légère correspond, respectivement, à un poids-pour-âge inférieur ou égal à 60%, de 61 à 75%, et de 75 à 90% de la norme de référence. Toutefois cette classification présente un intérêt diagnostique très faible car elle ne prend pas en compte la présence d'œdèmes.

En 1970, un comité d'experts de la nutrition établit alors une classification simplifiée, la classification de Wellcome, permettant de différencier les formes de malnutrition en incluant comme critère de diagnostic principal la présence ou non d'œdèmes (Wellcome *et al.*, 1970).

Toutefois ces deux classifications ne tiennent pas compte de la taille des enfants, qui reflète la gravité et la durée de la malnutrition.

Ainsi en 1972, Waterlow propose une nouvelle classification intégrant la taille des enfants. Cette classification définit pour la première fois les termes de retard de croissance (« stunting ») et d'émaciation (« wasting »).

En 1976, les références de Harvard sont remplacées par celles du National Center Health Statistics (Owen, 1978) dont l'utilisation est préconisée par l'OMS en 1983 (OMS, 1983) et qui permettent des comparaisons au niveau international. Cependant ces références présentent certaines limitations techniques car elles sont basées sur les mesures d'enfants vivant dans des pays industrialisés et pour la majorité nourris au lait maternisé (Mei *et al.*, 1998).

Au début des années 90, l'OMS entreprend une analyse des références anthropométriques disponibles ainsi qu'une synthèse des données portant sur la croissance d'enfants nourris au sein (Global Data Bank on Infant and Young Child Feeding). Il ressort très clairement de cette analyse que la croissance des enfants nourris au sein et en bonne santé s'écarte de façon notable des courbes internationales de référence NCHS/OMS (Dewey *et al.*, 1995). Ces dernières font alors l'objet de vives critiques et l'OMS conclut que les courbes de croissance NCHS/OMS ne décrivent pas de façon satisfaisante la croissance physiologique, définie comme celle des enfants nourris au sein. L'organisation recommande alors l'élaboration de « réels » standards (de Onis *et al.*, 1997). En 1997 débute l'étude OMS multiculturelle de la croissance qui durera jusqu'en 2003. Elle se déroule dans 6 pays très différents : Brésil, Etats-Unis d'Amérique, Ghana, Inde, Norvège, et Oman. Elle comporte un suivi longitudinal de la naissance à l'âge de 24 mois, couplé à une analyse transversale de la croissance chez des enfants âgés de 18 à 71 mois. Les nouveaux standards sont élaborés sur la combinaison des deux études (longitudinale et transversale) et sur la fusion des données des différents sites (WHO, 2006).

Les standards OMS reflètent une croissance dans des conditions optimales et peuvent être utilisés pour évaluer la croissance en toutes circonstances, indépendamment de l'origine ethnique, du statut socio-économique et du mode d'alimentation.

L'échantillon provenant de 6 pays différents a montré que les enfants ont, jusqu'à l'âge de cinq ans, une croissance comparable dans les différentes régions du monde quand leurs besoins sont couverts, tant en termes de santé que d'alimentation.

ii. Mode d'expression des indices anthropométriques

Les indices anthropométriques peuvent être exprimés par trois modes de calculs différents (Waterlow *et al.*, 1977) : en pourcentage par rapport à la médiane, en centile ou en Z-Score (tableau 2).

a) Pourcentage par rapport à la médiane

Le pourcentage par rapport à la médiane est le rapport, exprimé en pourcentage, entre la mesure observée et la valeur médiane de référence. Le principal inconvénient de cette méthode est l'absence de correspondance exacte avec un point fixe de la distribution aux différents âges et tailles.

b) Centile

Le centile délimite une valeur en dessous de laquelle se situe un pourcentage d'enfants de la population de référence. Il ne se calcule pas mais doit être recherché dans une table de centiles. La taille d'un enfant se trouvant par exemple dans le 10^{ème} centile pour l'indice taille-âge, indiquera simplement que 10% des enfants de son âge ont une taille égale ou inférieure à la sienne dans la population de référence. Ce mode d'expression présente l'inconvénient de ne pas permettre la comparaison entre individus situés très en deçà des premiers centiles de la norme internationale.

c) Z-Score

Le Z-Score rend compte de la différence entre la mesure observée et la valeur médiane établie pour la population de référence, cette différence étant exprimée en prenant comme unité de mesure l'écart-type de la distribution. L'écart-type est une mesure de dispersion d'une distribution. Pour la dispersion des valeurs du poids et de la taille au sein de la population de référence, l'écart-type est donné dans les tables de références par tranches d'âge et par classes de taille pour les enfants de moins de 5 ans. Il présente l'avantage de ne pas varier avec l'âge puisqu'il est relié à la distribution de la population de référence.

Tableau 2: Modes de calcul des différents indices nutritionnels

Indice	Mode de calcul	Valeur obtenue quand la mesure est égale à la médiane de la population de référence
% de la médiane	$\frac{\text{mesure} \times 100\%}{\text{médiane}}$	100%
Centile	obtenu par lecture des tables de centiles	50 ^e
Z-Score	$\frac{(\text{mesure} - \text{médiane})}{\text{Ecart-type de la population de référence}}$	0

L'emploi du Z-Score a été recommandé par l'OMS en 1995 (OMS, 1995). Il est actuellement le mode de calcul le plus fréquemment employé en recherche.

Les estimations des différentes formes de malnutrition présentées dans ce manuscrit sont basées sur les indices suivants :

HAZ = Height-for-Age Z-Score pour estimer le retard de croissance en taille

WHZ= Weight-for-Height Z-Score pour estimer la maigreur ou émaciation

WAZ= Weight-for-Age Z-Score pour estimer l'insuffisance pondérale.

iii. Choix des seuils ou points de coupure

Pour détecter si un enfant souffre de malnutrition ou estimer la prévalence des différentes formes de malnutrition dans une population, il est nécessaire de fixer un seuil en dessous duquel l'indice nutritionnel caractérise les enfants comme malnutris (émaciés, retardés en taille ou souffrant d'insuffisance pondérale).

Actuellement, l'OMS recommande d'employer le seuil de -2 écarts types en dessous de la médiane de la population de référence (-2 écarts types, Z-Score = -2). Ce seuil a été choisi par convention et n'a pas de signification biologique particulière (Waterlow *et al.*, 1977).

Il est également admis qu'un Z-Score inférieur à -3 reflète une malnutrition sévère.

La méthode dite « des seuils » est toutefois sujet à controverse, en particulier pour la détermination des enfants qui doivent bénéficier d'un programme de prise en charge nutritionnelle. En effet cette méthode peut se révéler imparfaite dans la détection de la malnutrition chez les enfants, et plus particulièrement lorsqu'il s'agit de malnutrition modérée. Plusieurs écueils viennent remettre en cause les seuils utilisés.

Premièrement, l'emploi de seuils génère un certain nombre de « faux-positifs » c'est-à-dire des sujets diagnostiqués malnutris par erreur et de « faux-négatifs », des sujets diagnostiqués non malnutris par erreur. Ces nombres de faux-positifs et faux-négatifs sont fortement associés à la spécificité et à la sensibilité, elles-mêmes conditionnées par la valeur du seuil. Ainsi, en fonction de l'objectif des enquêtes nutritionnelles, et notamment dans le cadre de prise en charge de la malnutrition, le choix du seuil doit permettre une détection optimale de la malnutrition dans la population considérée.

Deuxièmement, lors d'un passage transversal, un seuil fixé ne permettra pas de détecter les événements récents de dénutrition s'ils ne conduisent pas à diminuer l'indice anthropométrique en dessous du seuil au moment de l'enquête. Si un enfant maigrit, en raison d'une ration insuffisante, mais que son poids reste au-dessus de la limite arbitraire de -2 Z-Scores, il ne sera pas classé parmi les enfants dénutris, bien qu'il puisse avoir perdu du poids de façon importante et qu'il puisse « tomber » en-dessous du seuil après le moment où les mesures sont faites. Des études menées au Zaïre ont mis en évidence cette discordance entre la malnutrition uniquement détectée d'après un « seuil anthropométrique » et la malnutrition détectée par un examen clinique (Vandenbroeck *et al.*, 1994; VandenBroeck *et al.*, 1996).

1.4 Facteurs influençant l'état nutritionnel

Pendant la période de croissance rapide de la prime enfance, la nutrition est le principal facteur influençant les mensurations corporelles. Cependant, d'autres facteurs peuvent interférer sur les composantes corporelles, c'est le cas des maladies infectieuses, virales ou parasitaires. Ainsi, les deux causes immédiates de malnutrition sont l'inadéquation de la ration alimentaire et la maladie. Leur interaction tend à créer un cercle vicieux : la malnutrition affaiblit les défenses immunitaires de l'enfant, alors plus sensible aux infections qui vont détériorer l'état nutritionnel de l'enfant.

Toutefois, la malnutrition résulte de la combinaison de facteurs directs et indirects qui influencent l'état nutritionnel.

On peut répartir ces facteurs en trois grandes catégories : l'alimentation, l'état de santé individuel, et la capacité de prise en charge des ménages et des collectivités.

Le cadre conceptuel des causes de malnutrition proposé par l'UNICEF expose clairement l'aspect multisectoriel de l'étiologie de la malnutrition (figure 1). Les causes sont classées en causes immédiates (niveau de l'individu), sous-jacentes (niveau du foyer ou de la famille) et fondamentales (niveau de la société), l'influence des facteurs à un niveau se répercutant sur les autres niveaux.

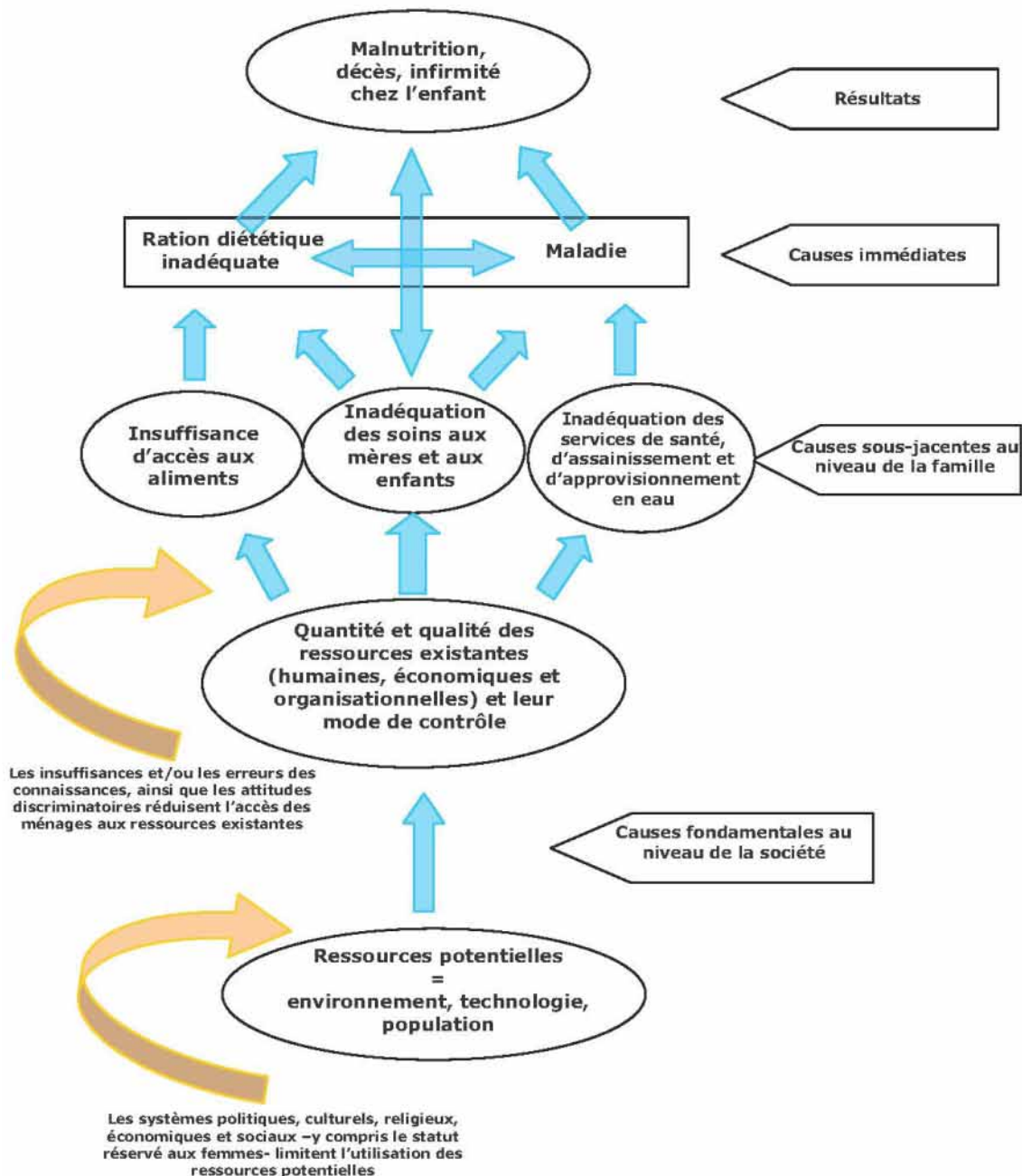


Figure 1: Cadre conceptuel des causes de malnutrition et de morbidité. Source UNICEF, 1997

1.4.1 Le facteur alimentaire

Le facteur alimentaire influence directement l'état nutritionnel des individus.

Parce que la période de croissance et de développement rapide de la prime enfance nécessite des apports nutritionnels quantitatifs et qualitatifs importants, les enfants entre 0 et 5 ans sont particulièrement vulnérables face à la malnutrition. Le facteur alimentaire limitant généralement en cause chez le jeune enfant est l'insuffisance de l'apport énergétique, puis vient ensuite l'insuffisance des apports en protéines.

C'est ainsi que près de 25% des enfants de 3 à 5 ans ne consomment pas les 1100 Kcal qui leurs seraient nécessaires : leur déficit calorique est de l'ordre de 400 Kcal par jour. Quant au déficit de l'apport en protéines, celui-ci porte à la fois sur la quantité de

protéines qui est insuffisante et sur la qualité de ces protéines (par défaut de certains acides aminés dits essentiels). A ce déficit en énergie et en protéines s'ajoutent souvent des carences en zinc, en fer, en Vitamine A et en Vitamines du groupe B. La conjonction de ces différents facteurs entraîne des perturbations du fonctionnement des organes et un ralentissement de la croissance.

Certaines études dans les années 90 démontrèrent que l'allaitement maternel prolongé était un facteur de risque de malnutrition des enfants vivant en pays en développement (Grummerstrawn, 1993; Caulfield *et al.*, 1996). Toutefois, les résultats de ces études basés sur l'utilisation des anciennes normes NCHS sont aujourd'hui remis en cause par l'établissement des nouveaux standards OMS. De plus, une étude menée par le docteur Kirsten Simondon et collègues dans une zone rurale du Sénégal, a montré que ce n'est pas l'allaitement prolongé qui est à l'origine du retard de croissance des enfants mais que c'est parce que les enfants sont retardés en taille que les mères décident de prolonger l'allaitement (Simondon *et al.*, 2001). Cependant, il est évident que les modalités d'introduction des aliments de complément dans l'alimentation du jeune enfant représentent toujours la première étape dans le processus de malnutrition. En effet, la période de diversification alimentaire s'avère critique dans les pays en développement, soit cette période est brutale: lorsqu'une mère tombe enceinte ou se croit enceinte, celle-ci arrête immédiatement l'allaitement du dernier enfant ; soit les bouillies et aliments de complément sont introduits trop tôt dans l'alimentation du jeune enfant augmentant considérablement le risque d'infections intestinales graves, parfois mortelles (Marino, 2007). De plus ces aliments de complément ou bouillies sont de faible valeur nutritive et ne couvrent pas le besoins en protéines et en micronutriments des jeunes enfants. Actuellement, les nouvelles recommandations de l'OMS préconisent l'allaitement exclusif jusqu'à l'âge de six mois et promeuvent l'introduction d'aliments de qualité en informant les mères sur leur valeur nutritive (Butte *et al.*, 2002).

Bien que restreinte autrefois au seul concept de consommation d'aliments, l'alimentation aujourd'hui est considérée comme un ensemble de facteurs qui conditionnent la prise alimentaire tels que : la disponibilité, l'accessibilité et la consommation d'aliments sans danger et de bonne qualité. Le régime alimentaire doit être approprié en termes de quantité et de qualité et les nutriments doivent être combinés de manière à ce que le corps puisse les assimiler (énergie, protéines, graisse et micronutriments). Or, dans les pays en développement, les régimes alimentaires sont souvent peu variés, limitant l'apport de protéines, d'énergie et de certains micronutriments (Diaz *et al.*, 2003; Millward *et al.*, 2004; FAO, 2008). Ces régimes alimentaires déséquilibrés sont le résultat de l'insécurité alimentaire qui règne dans les pays en développement limitant l'accès aux ressources et aux denrées alimentaires.

Au niveau du ménage, la décision des aliments qui viennent sur la table (demande) et de ceux qui les mangeront (distribution intra ménage) déterminent la composition des repas des individus. Les habitudes (tabous alimentaires) et les connaissances (préparation,

transformation, pratiques d'alimentation des enfants) influent sur la composition mais aussi sur l'utilisation biologique des aliments.

La sous-nutrition et la plupart des carences en micronutriments frappent d'abord les ménages pauvres et défavorisés dont les membres ne peuvent produire ou se procurer suffisamment de nourriture de qualité. On mesure ici, l'impact de la pauvreté comme une cause fondamentale au niveau sociétal.

1.4.2 L'influence des infections

Les infections représentent la deuxième cause immédiate de malnutrition.

Certaines études menées à la fin des années 70, ont démontré que les infections pouvaient être également un facteur déclenchant de malnutrition (Scrimshaw *et al.*, 1968). Cependant, au-delà d'un simple lien de causalité unidirectionnel, malnutrition et infection s'inscrivent dans un « cercle vicieux » (Chandra, 1979) et interagissent de façon complexe (Schaible *et al.*, 2007). En dégradant le système immunitaire, la malnutrition engendre une vulnérabilité accrue aux infections, et les épisodes infectieux vont à leur tour être à l'origine de profonds désordres métaboliques et d'une détérioration de l'état nutritionnel.

En 1977, Beisel propose un schéma décrivant la chronologie des événements pathophysiologiques qui conduisent à une atteinte nutritionnelle par déséquilibre entre apports et besoins (Beisel, 1977). L'anorexie très fréquente lors d'épisodes infectieux réduit les ingesta. L'atrophie intestinale diminue l'absorption des nutriments et certaines pathologies telles que la gastroentérite, peuvent augmenter les pertes fécales. Parallèlement, la fièvre entraîne une élévation du métabolisme basal ce qui provoque une consommation accrue de nutriments énergétiques. De plus, la synthèse des protéines de la phase aiguë de la réponse immunitaire et des enzymes assurant la néo-glucogénèse nécessite d'importants apports protéiques. Ce déséquilibre entre la diminution des apports et l'augmentation des besoins entraîne un bilan négatif de l'azote puis des autres nutriments.

Les épisodes infectieux associés à une alimentation à la limite inférieure des besoins précipitent alors l'enfant dans une spirale morbide.

1.4.3 Etiologie des différentes formes de malnutrition

Bien que l'on distingue plusieurs formes de malnutrition, il est difficile d'identifier précisément quels sont les facteurs orientant les enfants vers une forme de malnutrition plutôt qu'une autre, à savoir principalement l'émaciation ou le retard en taille. Des rations alimentaires inadéquates associées à des épisodes infectieux sont les causes principales et directes des différentes formes de malnutrition. Ces causes peuvent être distinguées par leur aspect chronique ou soudain, et influenceront alors l'évolution de l'état nutritionnel de l'enfant vers une forme de malnutrition.

1.4.3.1 Le retard de croissance staturale

Le retard de croissance staturale résulte généralement d'un déficit alimentaire prolongé et de la survenue fréquente d'épisodes infectieux (Martorell *et al.*, 1994). Ce retard révèle des problèmes de santé et de nutrition aux effets cumulatifs et chroniques tout au long de la croissance du jeune enfant. C'est pendant les premières années de vie que la vitesse de croissance de l'enfant est la plus importante : le nourrisson prend 20 cm la première année puis environ 10 cm par an pour doubler sa taille de naissance à l'âge de 4 ans. Cette période nécessite donc un apport alimentaire important et de haute valeur nutritionnelle. Dans un contexte d'insécurité alimentaire ne couvrant pas les besoins nutritionnels des enfants, la constitution du retard de croissance apparaît très tôt dans la petite enfance. La diminution de la vitesse de croissance qui aboutit au retard statural apparaît en général vers l'âge de 3 à 6 mois correspondant à l'âge d'introduction des aliments de complément chez l'enfant. Ainsi certaines pratiques de sevrages ont longtemps été mises en cause dans l'apparition du retard de croissance en taille. En effet, la diversification alimentaire constitue une période où l'enfant est particulièrement vulnérable et en proie aux infections.

Le processus du retard de croissance staturale débute entre 3 et 6 mois et s'intensifie fortement jusqu'à environ 18 mois avant de se stabiliser entre deux et trois ans.

La question d'un possible rattrapage de croissance des enfants retardés en taille a longuement été débattue. Théoriquement, un rattrapage de croissance est possible chez tous les enfants mais en pratique les conditions de vie de ces enfants ne permettent pas ce processus de rattrapage de croissance. Généralement, on considère qu'un enfant retardé en taille peut rattraper son retard avant l'âge de deux ans s'il bénéficie de soins adaptés ou s'il évolue dans un nouvel environnement capable de satisfaire ses besoins nutritionnels. Par contre, lorsque l'enfant retardé en taille continue de résider dans l'environnement responsable de son retard de croissance, il semble qu'il ne puisse rattraper son retard statural (Golden, 1994). Le retard de croissance est alors considéré comme une « cicatrice ». Une étude récente, conduite au Kenya, a montré que le retard statural des enfants d'âge scolaire avait tendance à s'aggraver (Friedman *et al.*, 2005) soutenant l'hypothèse que les enfants âgés de plus de 2 ou 3 ans ne peuvent rattraper leur retard en taille. Cependant, certaines études ont révélé qu'un rattrapage partiel de la croissance en taille était possible, plus tard, à l'adolescence, en conséquence d'un retard pubertaire qui permettrait d'allonger la période de croissance staturale (Martorell *et al.*, 1994; Simondon *et al.*, 1998).

1.4.3.2 L'émaciation

L'émaciation ou maigreur est souvent le résultat d'un événement contemporain ou récent tel qu'une sous-alimentation aiguë ou/et une infection grave. L'émaciation est également associée à la forte saisonnalité qui règne dans les pays en développement (Simondon KB *et al.*, 1993). En effet la période de soudure entre deux récoltes est cruciale : les

réerves alimentaires s'épuisent, les prix augmentent sur les marchés, l'alimentation devient plus monotone et carencée. Les changements saisonniers de l'état nutritionnel sont plus évidents chez les populations rurales, surtout quand celles-ci dépendent d'une seule moisson. Les pics saisonniers de la malnutrition coïncident non seulement avec la « saison maigre », quand la disponibilité des aliments est très limitée et que les mères sont affairées aux travaux des champs, mais aussi avec l'augmentation de la fréquence de certaines maladies au moment de la saison des pluies, en particulier la diarrhée et le paludisme.

L'émaciation touche les enfants de tous âges, parfois même les adultes et particulièrement les femmes en âge de procréer. Contrairement au retard de croissance, le processus d'émaciation ne suit pas un « profil » particulier et est plus facilement réversible. Toutefois, les nouveaux standards OMS tendent à suggérer que la prévalence de l'émaciation est également importante dans la première année de vie (de Onis *et al.*, 2006).

1.5 Conséquences de la malnutrition des enfants

Tout comme les causes, les conséquences de la malnutrition du jeune enfant sont multiples et multifactorielles tant sur le plan individuel que sur le plan sociétal.

Au niveau de l'individu, la malnutrition est impliquée dans l'état de santé, le développement psychomoteur, les performances scolaires, et plus tard la capacité physique et la résistance au travail. Ces conséquences ont-elles mêmes des répercussions au niveau de la société en augmentant le coût de la prise en charge de la malnutrition et des soins apportés aux enfants malnutris. D'autre part, en diminuant la capacité physique de travail à l'âge adulte, la malnutrition influence et ralentit le développement économique des sociétés et inscrit les familles dans un cercle vicieux car les parents ne parviennent pas à subvenir aux besoins de la famille ce qui augmente irrémédiablement le risque de malnutrition des enfants. Les conséquences de la malnutrition au niveau de la santé publique sont développées plus longuement dans les sections 1.6.4 et 1.6.5.

1.5.1 Influence de la malnutrition sur l'immunité

L'état nutritionnel a une influence indiscutable sur l'apparition, la durée, la gravité et l'évolution des infections. Le cercle vicieux malnutrition-infection est étudié depuis des dizaines d'années (Scrimshaw *et al.*, 1968 ; Chandra, 1979) et le rôle immuno-dépressif de la malnutrition est aujourd'hui largement reconnu. A l'échelle mondiale, la sous-nutrition est la cause la plus commune d'immunodéficience.

La malnutrition affecte chacun des trois niveaux de défense : immunité non spécifique, cellulaire et humorale. Tous les nutriments sont concernés : substrats calorico-azotés, oligoéléments et vitamines sont impliqués d'une manière générale et à titre individuel.

Les cinq activités immunitaires les plus fréquemment touchées par la malnutrition sont :

- l'immunité cellulaire
- la fonction phagocytaire
- le système du complément
- les anticorps sécrétoires
- la production des cytokines.

L'effet de la malnutrition sur l'immunité des enfants est présenté en différenciant d'une part l'effet de la malnutrition protéino-énergétique et d'autre part l'effet des carences en micronutriments.

1.5.1.1 Malnutrition protéino-énergétique (MPE) et immunité

i. Immunité innée

La peau et les muqueuses des tractus respiratoire et gastro-intestinal, acteurs de l'immunité innée, représentent la première ligne de défense de l'organisme. Outre son aspect de défense mécanique et thermique la peau participe activement à la défense immunitaire en induisant une réaction inflammatoire en cas de lésion et d'introductions d'agents pathogènes. Dans le cas de la MPE, on constate, d'une part, une diminution de la réaction inflammatoire induite par la peau et, d'autre part, une augmentation de la perméabilité de la peau aux agents pathogènes liée à l'altération de l'épithélium surtout chez les enfants atteints de kwashiorkor.

D'autres facteurs non-spécifiques tels que mucus, cils, phagocytes, système de complément, protéines inflammatoires, lysozyme, cytokines et interféron sont aussi perturbés au cours de la MPE.

Lors de la phagocytose, on observe principalement une baisse du phénomène d'opsonisation et une altération de la fonction des polynucléaires et des macrophages: la mobilisation des monocytes est réduite et présente un léger retard (Leke *et al.*, 1996).

L'activité du complément est également affectée par la MPE qui induit une diminution de la sécrétion des facteurs du complément et notamment la fraction C3.

ii. Immunité spécifique

a) Réponse à médiation cellulaire

Le déficit protéino-énergétique chez l'enfant malnutri affecte principalement la réponse immunitaire à médiation cellulaire. En effet, la MPE induit une diminution du volume et de la fonction de tous les organes lymphoïdes, à commencer par le thymus. Le thymus est l'organe clé de l'immunité à médiation cellulaire et réagit très précocement à une dégradation de l'état nutritionnel. L'atrophie importante du thymus liée à la malnutrition, également appelée « thymectomie nutritionnelle », est à l'origine d'un déficit fonctionnel des lymphocytes T. La stimulation antigénique induit une moindre prolifération lymphocytaire et la maturation des lymphocytes est réduite (Chandra *et al.*, 1994). De

plus on observe également une réduction du nombre de cellules T auxiliaires CD4+ et une diminution du rapport CD4+/CD8+.

b) Réponse à médiation humorale

De manière générale, l'immunité humorale n'est pas directement affectée par la MPE. Le taux d'immunoglobulines sériques (IgG, IgA, IgM, IgE) est normal ou élevé du fait des infections intercurrentes (Cunningham-Rundles *et al.*, 2005). Cependant chez les sujets souffrant de MPE, on observe généralement une baisse de la sécrétion des IgA sécrétoires.

1.5.1.2 Carence en micronutriments et immunité

L'avancée des recherches autant en nutrition qu'en immunologie ont permis de mettre en évidence le rôle prépondérant de certains micronutriments dans la mise en place et le fonctionnement de la réponse immunitaire face aux infections (Chandra *et al.*, 1994; Field *et al.*, 2002; Schaible *et al.*, 2007). De nombreux micronutriments tels que le Fer, le zinc, les vitamines A, C et E sont reconnus pour leur rôle immunomodulateur. Cependant la compréhension exacte de l'action de ces micronutriments dans la régulation de l'immunité est complexe et nécessite des études approfondies.

i. Carence en fer

Les effets physiologiques de la déficience en fer sont évidents dans de nombreux tissus incluant ceux du système immunitaire. De nombreuses enzymes impliquées dans les fonctions lymphocytaires et phagocytaires sont dépendantes du fer. Dans la plupart des études, une carence en fer (ou carence martiale) altère l'immunité à médiation cellulaire (Field *et al.*, 2002). Elle est associée à une baisse des lymphocytes T circulants, à une diminution de la capacité des neutrophiles à éliminer les bactéries et les champignons ainsi qu'à une réduction de la réponse lymphocytaire aux mitogènes et aux antigènes. L'activité des cellules NK (Natural Killer) est également altérée (Field *et al.*, 2002).

La plupart des dysfonctionnements immunitaires associés à une carence en fer semble être réversible après réplétion du statut en fer. Toutefois cela s'avère difficile à démontrer. La relation entre déficience en fer et prédisposition aux infections est complexe et sujet à controverses, et les mécanismes qui entrent en jeu dans cette interaction ne sont toujours pas connus avec certitude. Certaines études montrent une augmentation du risque d'infections chez les enfants déficients en fer alors que d'autres études mettent en évidence un effet protecteur de la carence martiale (Oppenheimer, 2001). Cette divergence est également observée dans le cadre d'études de supplémentation en fer (Oppenheimer, 2001). Toutefois parmi ces travaux, il est important de différencier les essais conduits en zone d'endémie palustre. En effet, le développement des espèces plasmodiales, dont le cycle évolutif est fortement dépendant du fer, semble favorisé lorsque les individus reçoivent des suppléments en fer

(Oppenheimer, 2001). L'interaction entre fer et infection palustre sera plus amplement développée dans le chapitre 3, section 3.2.1.

Le rôle exact du fer dans la régulation de l'interaction hôte-pathogène reste malgré tout à établir (Doherty, 2007) et la relation entre fer et infection est encore loin d'être élucidée. De plus, il est évident que la seule prédisposition aux infections est associée à de nombreux facteurs et ne dépend pas uniquement du statut en fer des individus. Ainsi, la présence d'autres déficiences nutritionnelles, l'exposition à divers micro-organismes, la sévérité et la durée de la carence martiale, les facteurs environnementaux liés à la pauvreté et aux conditions de vie des pays en développement sont autant de facteurs modificateurs ou de confusion éventuels dans l'interaction entre déficience en fer et infection (Kuvibidila *et al.*, 2002).

ii. Carence en Zinc

L'effet de la carence en Zinc sur les fonctions immunitaires a été abondamment documenté (Keen *et al.*, 1990; Chevalier *et al.*, 1996; Shankar *et al.*, 1998; Prasad, 2000). Un déficit en zinc altère l'immunité à médiation cellulaire et s'accompagne d'une involution des tissus lymphoïdes (rate, thymus) et de graves perturbations de la synthèse et de la maturation des lymphocytes T. Les principales activités décrites comportent une baisse du taux circulant de la thymuline (hormone thymique nécessitant la présence de zinc pour activer la maturation des lymphocytes T), une réduction des tests de prolifération lymphocytaire, une lymphopénie T avec réduction des populations CD4. La perturbation de la maturation des lymphocytes entraîne une diminution de la production d'anticorps IgG et IgM en réponse à une sollicitation par un antigène. Il existe également des altérations des fonctions macrophagiques et une diminution du chimiotactisme des neutrophiles.

Actuellement les relations entre zinc et immunité humorale sont bien établies. L'IL1 stimule les prélymphocytes B et le clonage des lymphocytes B matures qui sont à l'origine de la synthèse des anticorps. La production d'IL-1, d'IL-2, d'IFN, ainsi que de leur récepteur membranaire sont zinc dépendants.

Il semble également que le zinc joue un rôle important dans l'activation ou l'inactivation des gènes immunorégulateurs (Leke *et al.*, 1996).

De nombreuses études (documentées dans plusieurs revues (Shankar *et al.*, 1998 ; Prasad, 2000)) ont montré que la supplémentation des individus déficients en fer permettait de corriger les dysfonctionnements immunitaires.

iii. Carence en vitamine A

En dehors des effets sur la fonction oculaire, la carence en vitamine A s'accompagne de troubles immunitaires. De plus, elle peut se compliquer d'altération des épithéliums menant à une métaplasie et à une fixation accrue des bactéries. Il a été mis en évidence, en situation de carence en vitamine A, une diminution des lymphocytes B et T circulant ainsi que de leur réponse aux mitogènes, une réduction de l'activité bactéricides des

macrophages, une diminution de l'activité des cellules NK, une détérioration du mucus et de l'escalator mucociliaire respiratoires (Leke *et al.*, 1996).

De nombreuses études s'accordent à dire que la carence en vitamine A augmente la prédisposition des individus à certaines infections (Stephensen, 2001; Sommer, 2008). Plus d'une centaine d'interventions ont été conduites en population et ces études montrent que l'apport en vitamines A peut réduire la morbidité et la mortalité associées à la rougeole et aux diarrhées et diminuerait également la morbidité liée au paludisme (Villamor *et al.*, 2000). Toutefois la supplémentation d'individus déficients en vitamine A ne semble pas réduire la morbidité et la mortalité liées aux infections respiratoires basses.

iv. Carence en vitamines C et E

Ces vitamines ont un rôle important dans la protection des cellules de l'organisme contre les radicaux libres.

Un profond déficit en vitamine C s'associe principalement à une altération de l'immunité cellulaire, de la phagocytose, de la prolifération lymphocytaire en présence de mitogènes et de la production des immunoglobulines (Hughes, 2002).

Une carence en vitamine E est également associée à une diminution de la prolifération lymphocytaire, à un déficit de l'immunité cellulaire retardée et à un défaut de synthèse des anticorps en réponse à un antigène (Hughes, 2002).

Cet état des connaissances sur l'influence des déficits en micronutriments sur l'immunité est loin d'être exhaustif mais présente les déficiences les plus communément rencontrées dans les pays en voie de développement. De plus, les effets des carences en macro ou micro-nutriments ont été documentés de façon indépendante mais il est bien évident que les enfants malnutris souffrent de carences intercurrentes qui rendent complexe l'étude de la relation malnutrition-infection.

1.5.2 Influence de la malnutrition sur la mortalité

Bien que la malnutrition soit fréquente dans les pays en développement, elle est rarement citée parmi les causes majeures de décès.

Toutefois, il a largement été démontré que l'insuffisance pondérale est la cause sous-jacente de plus de la moitié des décès toutes causes confondues observés chez l'enfant de moins de cinq ans dans les pays en développement (Schroeder *et al.*, 1994; Pelletier *et al.*, 1995 ; Murray *et al.*, 1997). Les résultats de ces études montrent qu'il existe une association positive entre la gravité du déficit des indices anthropométriques et le risque de décès de l'enfant et que le risque de décès est également plus important chez les enfants atteints de malnutrition légère à modérée, et non pas seulement chez ceux qui sont gravement malnutris.

En 2004, une étude s'est intéressée à la variation de la relation entre insuffisance pondérale et mortalité en fonction de l'infection considérée (Caulfield *et al.*, 2004). Il ressort de cette analyse que la relation la plus forte entre l'insuffisance pondérale et l'augmentation du risque de décès a été observée pour la diarrhée (60,7% des décès liés aux diarrhées sont expliqués par l'insuffisance pondérale) et le paludisme (57,3%). Les données évoquent également un risque accru de décès par pneumonies chez les enfants souffrant d'insuffisance pondérale (52,3% des décès par pneumonies sont liés à l'insuffisance pondérale). La relation entre l'état nutritionnel et le décès par rougeole semble toutefois moins systématique.

Cette variation de la relation entre mortalité et malnutrition en fonction de la cause de décès doit cependant être nuancée car il est évident qu'un certain nombre de biais doivent être pris en considération dans ce genre de méta-analyse, tels que la qualité des données anthropométriques, l'imprécision des chiffres de la mortalité par cause, la pertinence des autopsies verbales, le temps écoulé entre les mesures anthropométriques et le décès, etc... De plus il est évident que les taux de mortalité sont affectés par plusieurs facteurs, en particulier l'environnement sanitaire et le niveau des soins disponibles. D'autres études sont nécessaires pour confirmer cette variation de l'effet de la malnutrition sur les causes de décès, cependant si cette tendance se confirme, elle peut avoir des répercussions importantes sur l'évaluation des programmes nutritionnels et des programmes pour la survie de l'enfant mis en œuvre dans des régions ayant des profils pathologiques différents (Rice *et al.*, 2000). En effet, si le rapport entre malnutrition et mortalité n'est pas le même pour toutes les maladies, les programmes qui parviennent à réduire la prévalence de la malnutrition n'auront pas les mêmes effets sur la survie de l'enfant dans les zones où les causes premières de décès diffèrent.

1.5.3 Influence de la malnutrition sur développement psychomoteur de l'enfant

De l'état nutritionnel de l'enfant découle son développement physique, mental et social. La croissance est un phénomène génétiquement déterminé, mais fortement influencé par l'environnement et par la nutrition : un enfant mal nourri ou qui vit dans des conditions d'hygiène déficientes n'atteindra pas la taille qu'il aurait obtenue s'il avait vécu dans des conditions favorables. L'influence des troubles nutritionnels est d'autant plus marquée que ces troubles interviennent à la période de croissance la plus active entre 0 et 3 ans.

Les effets négatifs de la malnutrition sur le développement psychomoteur de l'enfant sont documentés depuis le début des années (Nwuga, 1977 ; Pollitt *et al.*, 1993) avec une attention plus particulière pour l'effet du retard de croissance en taille sur le développement cognitif et comportemental des enfants (Walker *et al.*, 2007).

En effet une étude au Kenya a montré que dès les premiers mois les nourrissons retardés en tailles présentent un comportement différent, ces derniers étant moins réactifs aux stimulations et moins sociables que les enfants plus grands en taille (Whaley *et al.*, 1998).

D'autres études menées sur le développement psychosocial des enfants malnutris ont montré qu'il existe une association entre retard de croissance en taille et diminution des performances scolaires (Mendez *et al.*, 1999; Chang *et al.*, 2002) et intellectuelles (test du quotient intellectuel) dans l'enfance mais également à l'adolescence et plus tard à l'âge adulte (Martorell *et al.*, 1992 ; Chang *et al.*, 2002; Walker *et al.*, 2005).

Toutefois, une fois encore de nombreux facteurs relatifs à la pauvreté et aux mauvaises conditions de vie viennent interférer dans cette relation. En effet, les enfants malnutris grandissent souvent dans un environnement pauvre qui stimule peu leur développement intellectuel. Leurs parents ont eux-mêmes souffert de malnutrition et souvent n'ont pas les connaissances et l'éducation nécessaires à la stimulation intellectuelle et au bien être de leurs enfants (Grantham-McGregor *et al.*, 2007). De plus, fragilisés face aux infections, ils sont plus souvent absents de l'école.

Le retard de croissance durant l'enfance est également associé à une capacité de travail moindre dans la vie adulte (Haas *et al.*, 1996), liée à la réduction de la masse maigre (Satyanarayana *et al.*, 1979). Cela n'est pas sans conséquence sur la productivité économique surtout en ce qui concerne les pays en développement dont, la majorité affectés par le phénomène de retard de croissance, sont des pays à vocation agricole nécessitant une main d'œuvre importante.

Les effets intergénérationnels de la malnutrition et conséquences à long terme pour développement économique des pays sont exposés dans la section 1.6.5.

1.6 La malnutrition : problème mondial de santé publique

La malnutrition au sens de la sous-nutrition (i.e. englobant le retard de croissance, l'émaciation, l'insuffisance pondérale et les carences en micronutriments) reste dans le monde et à l'heure actuelle un des problèmes majeurs de santé publique.

La sous-nutrition touche principalement les enfants de moins de cinq ans qui vivent dans les pays en développement. Quatre-vingt-dix pour cent des enfants souffrant de malnutrition dans le monde vivent dans 36 pays seulement. Plus de 555 millions d'enfants d'âge préscolaire vivent dans ces pays et on estime à l'heure actuelle que 3,5 millions d'entre eux meurent chaque année pour cause sous-jacente de malnutrition (Black *et al.*, 2008).

Parmi ces enfants, 148 millions souffrent d'insuffisance pondérale, 178 millions de retard de croissance staturale et 55 millions sont émaciés. Ces chiffres montrent clairement l'ampleur du problème à l'échelle planétaire. La sous-nutrition ne cesse de représenter une charge de morbidité importante pour les pays à revenu faible et moyen. Cependant,

le surpoids et l'obésité co-existent de plus en plus fréquemment avec la sous-nutrition dans les pays en développement et ne sont plus l'apanage des pays industrialisés (Who, 1999). La nutrition doit être une priorité à tous les niveaux (régional, national et international) car elle constitue l'élément central du développement humain, social et économique.

1.6.1 L'insuffisance pondérale

La prévalence de l'insuffisance pondérale a diminué de 31 à 26% entre 1990 et 2006. Selon les toutes dernières estimations de l'UNICEF et de l'OMS, environ 25% des enfants de moins de cinq ans à travers le monde souffrent d'insuffisance pondérale et plus des trois quart de ces enfants vivent dans dix pays seulement (UNICEF, 2009) (figure 2). Bien que le taux d'insuffisance pondérale ait diminué de plus d'un tiers dans certains pays de l'Asie de l'Est ou du Pacifique, il reste très élevé dans d'autres régions pour lesquelles la baisse d'insuffisance pondérale est plus qu'insuffisante. L'Asie du sud et l'Afrique sub-saharienne comptent le plus grand nombre d'enfants de moins de cinq ans souffrant d'insuffisance pondérale dans le monde avec respectivement 78 et 36 millions d'enfants dénutris. Cinquante pour cent du nombre total d'enfants en insuffisance pondérale sont recensés dans trois pays d'Asie : le Bangladesh, l'Inde et le Pakistan. En Afrique, Le Nigéria et l'Ethiopie représentent à eux seuls un tiers des enfants souffrant d'insuffisance pondérale en Afrique sub-saharienne (UNICEF, 2009).

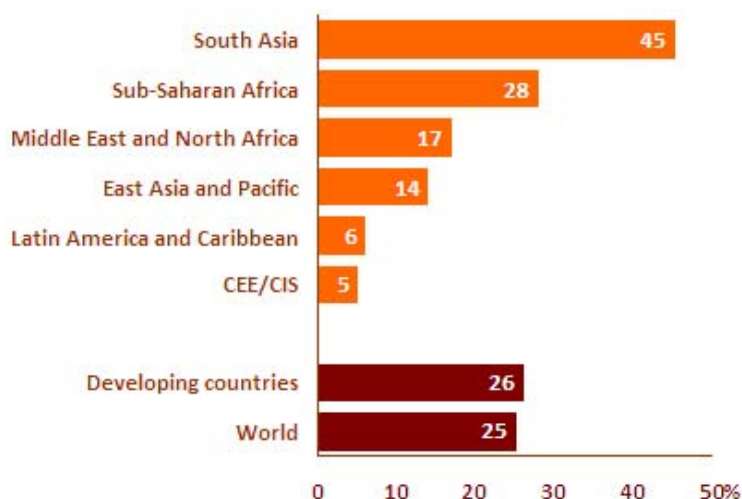


Figure 2: Prévalence de l'insuffisance pondérale des enfants de moins de 5 ans par région (2000-2007, NCHS/WHO/CDC reference population). Source : UNICEF, www.childinfo.org

De plus, quelle que soit la région à travers le monde, l'insuffisance pondérale touche de façon inégale les enfants en fonction de leur lieu d'habitation. En effet, les enfants vivant en milieu rural ont deux fois plus de risque de souffrir d'insuffisance pondérale que ceux vivant en milieu urbain (UNICEF, 2009).

1.6.2 Le retard de croissance

Une étude publiée en 2000 montre que le retard de croissance a connu une baisse conséquente depuis 1980, diminuant de 47,1% à 32,5% dans les pays en développement. Cette même étude a également estimé à environ 29% la prévalence du retard de croissance dans ces pays en 2005 (de Onis *et al.*, 2000). Malheureusement en 2008, les dernières estimations de l’OMS évaluait à 32% la prévalence de retard de croissance parmi les enfants de moins de cinq ans vivant dans les pays à revenu faible et moyen (UNICEF, 2008) (figure 3).

L’Asie du Sud enregistre la plus forte prévalence d’enfants retardés en taille avec environ 46%. Les régions du Sud et de l’Est de l’Afrique totalisent 41% d’enfants souffrant de retard de croissance alors que l’Afrique du Nord et le Moyen-Orient affichent une prévalence de 25%. Parmi les 39 pays atteignant 40% ou plus de prévalence de retard de croissance, 22 se situent en Afrique, 16 en Asie et 1 en Amérique Latine.

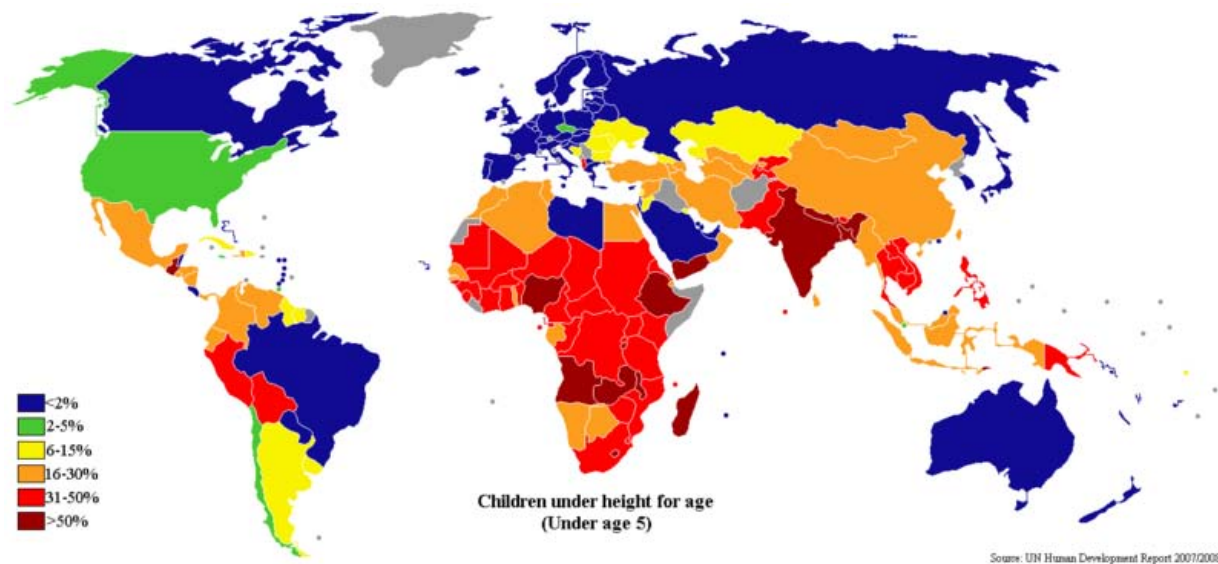


Figure 3: Prévalence du retard de croissance des enfants de moins de 5 ans par pays.

Source: UN Development Report 2007/2008.

1.6.3 L’émaciation

L’estimation globale de la prévalence de l’émaciation des enfants de moins de cinq ans à travers le monde s’élève à environ 11%, ce qui représente plus de 55 millions d’enfants. La plus forte prévalence se retrouve à nouveau en Asie du sud avec près de 18% des enfants d’âge préscolaire émaciés, ce qui correspond à environ 29 millions d’enfants. L’Afrique présente une prévalence d’émaciation variant de 7 à 10% en fonction des régions.

1.6.4 Charge globale de morbidité et risque de décès liés à la malnutrition

Les conséquences de la malnutrition sur la santé sont souvent mesurées en termes de mortalité, de contribution aux taux globaux de morbidité et du nombre d'années de vie diminuées par la maladie ou l'invalidité. La charge globale de morbidité mesure l'écart entre la santé actuelle d'une population et une situation idéale où toutes les personnes de la population vivent en bonne santé jusqu'à un âge avancé. Cet indicateur intègre les notions de mortalité et morbidité. L'unité utilisée pour cette mesure est le DALY (disability-adjusted life years — années de vie ajustées sur l'incapacité). Les DALY combinent les années de vie perdues en raison d'un décès prématuré et les années de vie vécues avec des invalidités dans un même indicateur, ce qui permet d'évaluer la perte totale de santé en tenant compte des différentes causes. Un DALY peut être considéré comme approximativement une année de vie « saine » perdue.

Le retard de croissance, l'insuffisance pondérale et l'émaciation représentent respectivement 12,6%, 18,7% et 14,8% de la charge globale de morbidité chez les enfants de moins de cinq ans. Si on prend en compte conjointement l'effet des facteurs de risques liés à la sous-nutrition (insuffisance pondérale, retard de croissance, émaciation, carences en micronutriments, retard de croissance intra-utérin), la malnutrition représente alors la cause sous-jacente d'environ 27% de la charge globale de morbidité (114 millions de DALYs) chez les enfants de moins de cinq ans (Black *et al.*, 2008).

Une analyse regroupant les données de huit pays à faible revenu (Ghana, Guinée Bissau, Sénégal, Philippines, Népal, Pakistan, Inde et Bangladesh) a estimé le risque de mortalité toutes causes ainsi que le risque de décès associé aux diarrhées, pneumonies, paludisme et rougeole en fonction du Z-Score pour chaque type de malnutrition (tableau 3) (Black *et al.*, 2008). Les odds ratios (ou rapports de côtes) ont été estimés en ajustant sur les facteurs de confusions socio-économiques tels que l'accès aux soins.

	<-3 (95% CI)	-3 to <-2 (95% CI)	-2 to <-1 (95% CI)	More than -1
Weight-for-age (Z score)				
Overall*	9.7 (5.2-17.9)	2.5 (1.8-3.6)	1.8 (1.2-2.7)	1.0
Diarrhoea*	9.5 (5.5-16.5)	3.4 (2.7-4.4)	2.1 (1.6-2.7)	1.0
Pneumonia*	6.4 (3.9-10.4)	1.3 (0.9-2.0)	1.2 (0.7-1.9)	1.0
Malaria†	1.6 (1.0-2.7)	1.2 (0.5-3.5)	0.8 (0.2-3.2)	1.0
Measles‡	6.4 (4.6-9.1)	2.3 (1.7-3.2)	1.3 (1.1-1.5)	1.0
Height-for-age (Z score)				
Overall*	4.1 (2.6-6.4)	1.6 (1.3-2.2)	1.2 (0.9-1.5)	1.0
Diarrhoea*	4.6 (2.7-8.1)	1.6 (1.1-2.5)	1.2 (0.9-1.7)	1.0
Pneumonia*	3.2 (1.5-6.7)	1.3 (0.9-2.1)	1 (0.6-1.6)	1.0
Malaria†	2.1 (0.9-4.9)	1.0 (0.4-2.4)	0.7 (0.5-0.9)	1.0
Measles‡	2.8 (1.4-5.8)	1.7 (0.8-3.6)	0.7 (0.5-0.9)	1.0
Weight-for-height (Z score)				
Overall*	9.4 (5.3-16.8)	3.0 (2.0-4.5)	1.5 (1.2-1.9)	1.0
Diarrhoea*	6.3 (2.7-14.7)	2.9 (1.8-4.5)	1.2 (0.7-1.9)	1.0
Pneumonia*	8.7 (4.8-15.6)	4.2 (3.2-5.5)	1.6 (1.1-2.4)	1.0
Malaria†	2.3 (1.6-3.2)	3.0 (1.0-8.9)	0.9 (0.3-2.6)	1.0
Measles‡	6.0 (4.3-8.2)	3.7 (2.5-5.5)	1.8 (0.9-3.6)	1.0

*Ghana, Senegal, Guinea Bissau, the Philippines, India, Nepal, Bangladesh, Pakistan. †Ghana, Senegal, and Guinea Bissau. ‡Nepal, Ghana, Senegal, Guinea Bissau, and the Philippines.

Tableau 3 : Odds ratios de la mortalité toutes causes et des causes de décès des enfants en fonction des indices WAZ, HAZ et WHZ. (Source : Black *et al*, The Lancet Series, 2008, vol 371, issue 9608)

Qu'il s'agisse de retard de croissance, d'émaciation ou d'insuffisance pondérale le risque de décès toutes causes est significativement plus élevé lorsque le Z-Score est inférieur à -3. Les enfants souffrant de grave insuffisance pondérale ont un risque de décès 9,7 fois supérieur aux enfants dont le Z-Score est supérieur à -1.

Parmi les infections considérées dans cette analyse, il ressort qu'un rapport poids-pour-âge ou taille-pour-âge inférieur à -3 Z-Score augmente particulièrement le risque de décès par diarrhées, alors qu'un enfant ayant un rapport poids-pour-taille inférieur à -3 Z-Score aura plus de risque de décéder suite à une pneumonie. En ce qui concerne le paludisme, seuls les enfants sévèrement émaciés ont un risque de mortalité significativement supérieur aux enfants dont le Z-Score est supérieur à -1.

1.6.5 Malnutrition et développement socio-économique des pays

Les taux de malnutrition sont aujourd'hui considérés comme un indicateur des plus révélateurs du niveau de développement d'un pays car ils synthétisent les déterminants environnementaux, sociaux, économiques et culturels des états de santé (Delpuech *et al.*, 2002). Contrairement aux indicateurs de mortalités, les indicateurs nutritionnels ne

résumement pas uniquement un mode de vie passé mais permettent également de juger des risques sanitaires d'une population à un instant t et ont une valeur prédictive des problèmes de santé à venir.

La malnutrition engendre des effets négatifs à long terme qui peuvent alors avoir des répercussions sur les générations futures et établissent ainsi un cycle à répétitions. Chez les femmes, une petite taille constitue un risque pour la santé de la reproduction avec comme conséquences des complications obstétricales. De plus, l'état nutritionnel des femmes avant et pendant leur grossesse conditionne fortement la croissance et le développement intra-utérins du fœtus. Par conséquent la malnutrition chez la mère est un facteur de risque de faible poids de naissance, lui-même associé à un risque élevé de malnutrition chez le jeune enfant (Fishman *et al.*, 2004) et de taille réduite chez l'adulte, qui à son tour est associée à un risque accru de donner naissance à un enfant de faible poids (Victora *et al.*, 2008). On parle alors de cercle vicieux de transfert d'handicaps de la mère à l'enfant (figure 4).

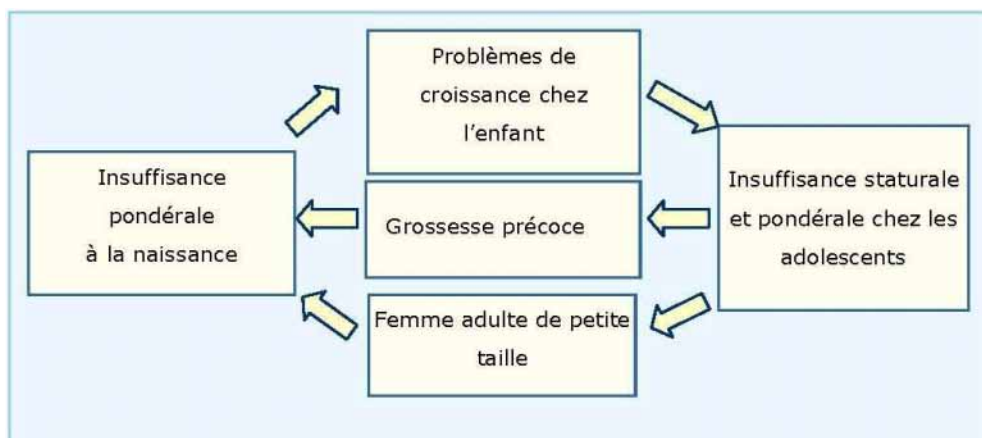


Figure 4: Cycle intergénérationnel de la malnutrition. Source: FAO, 2007

Ainsi il est important de constater qu'au-delà des effets à courts termes, la malnutrition maternelle et infantile a des effets intergénérationnels à long terme enchaînant les populations défavorisées à leur condition de pauvreté extrême. Plusieurs études épidémiologiques montrent que la malnutrition en affectant le développement cognitif des enfants entraîne une difficulté d'apprentissage et une diminution des performances scolaires (Walker *et al.*, 2007). Certaines de ces études montrent également que la malnutrition des enfants est également associée à un statut professionnel moins important ainsi qu'à une diminution de la capacité de travail à l'âge adulte entraînant inévitablement de plus faibles revenus au sein des ménages (Victora *et al.*, 2008).

Ainsi la malnutrition inscrit les individus dans une trajectoire qui limite considérablement leur contribution au bien-être de leurs familles et au développement socio-économique de leurs communautés et de leurs pays.

Les conséquences des malnutritions, y compris sous ses formes modérées, et des carences en micronutriments sont considérables et représentent un coût social et économique colossal pour les sociétés défavorisées.

Le premier objectif du Millénaire pour le Développement, fixé par les sommets internationaux il y a presque vingt ans, et visant à diminuer de moitié la pauvreté et la faim dans le monde, est loin d'être atteint. La proportion de personnes dénutries est passée d'environ 20% au début des années 1990 à environ 16% au milieu de la décennie suivante, mais des estimations provisoires laissent présager une augmentation de l'insuffisance pondérale d'un pour cent en 2008. Par ailleurs, si l'on considère la dénutrition des enfants de moins de cinq ans, les progrès dans les pays en développement sont largement insuffisants et ne permettront certainement pas d'atteindre les 15% de prévalence fixés pour 2015. En effet, depuis 1990, le taux l'insuffisance pondérale des enfants de moins de cinq ans vivant dans les pays en développement n'a diminué que de 5% (ONU, 2009).

Les inégalités se creusent aussi bien d'un point de vue mondial qu'au sein même des pays.

De plus, dans le contexte actuel, la hausse des prix des denrées alimentaires engendre une augmentation inquiétante du nombre de personnes souffrant de la faim. En septembre 2008 à Rome, la FAO estimait à 75 millions le nombre de personnes de plus plongées au dessous du seuil de la faim (FAO, 2008). Entre 2007 et 2008, le prix des denrées alimentaires a accusé une augmentation de 52% entraînant dans les pays à faibles revenus des « émeutes de la faim ». Il devient urgent de rompre le cycle faim-pauvreté, car l'état nutritionnel d'une population reflétant son seuil de pauvreté est à la fois cause et conséquence du développement des sociétés.

Chapitre 2 : Le paludisme

2.1 Epidémiologie du paludisme

Le paludisme demeure à l'heure actuelle la parasitose tropicale la plus répandue et la plus meurtrière à travers le monde (OMS, 2008). Le paludisme est une affection parasitaire causée par des hématozoaires du genre *Plasmodium* dont la transmission est assurée exclusivement par les moustiques femelles du genre *Anopheles*. Il existe environ deux cents espèces de *Plasmodium* qui peuvent infecter les reptiles, les oiseaux et les mammifères. Parmi les quatre espèces de *Plasmodium* qui infectent l'homme (*P. vivax*, *P. malariae*, *P. falciparum*, *P. ovale*), *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus répandue et la plus virulente qui induit les formes les plus graves avec la survenue d'accès cérébraux sévères responsables de la majeure partie des décès palustres.

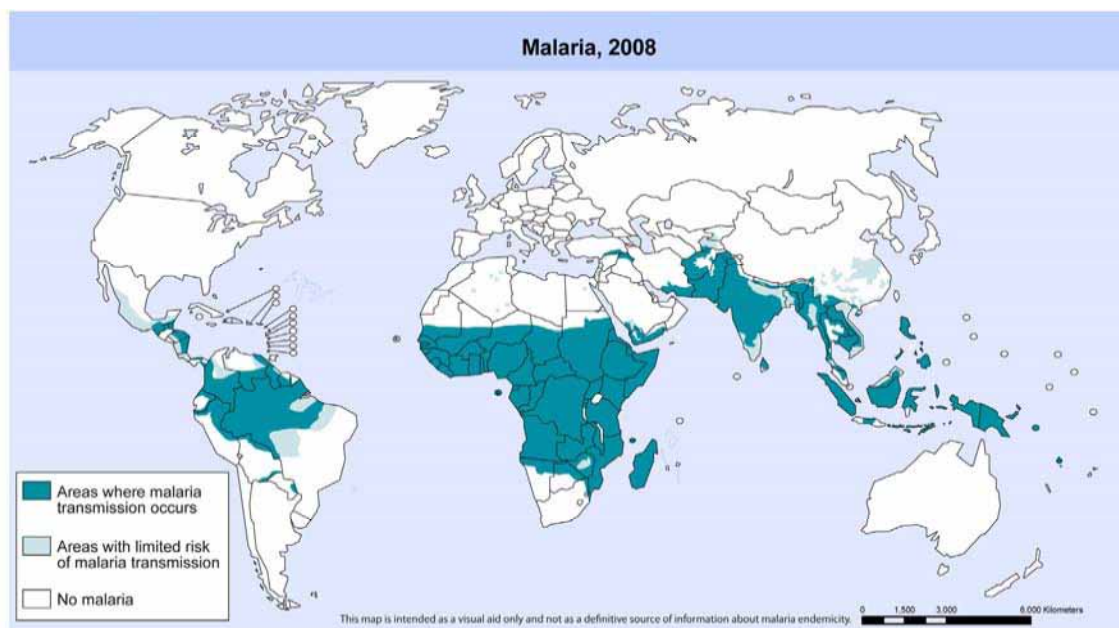


Figure 5: Répartition mondiale des zones impaludées. Source : WHO, 2008

Le paludisme sévit essentiellement dans les zones tropicales et subtropicales. En 2008, le paludisme était endémique dans 109 pays dont 45 sont situés dans la région africaine de l'OMS (figure 5) (OMS, 2008).

Sur 3,3 milliards de personnes vivant en zone impaludée en 2006, 1,2 milliard étaient exposées à un risque élevé de transmission du paludisme. On estime à 247 millions le nombre de cas de paludisme, pour la plupart chez les enfants de moins de 5 ans. Quarante-six pour cent des cas de paludisme recensés se sont produits en Afrique. De plus, l'OMS estime à 881 000 le nombre de décès par paludisme en 2006, dont 91% en Afrique et 85% chez les enfants de moins de cinq ans (OMS, 2008).

Ces chiffres alarmants reflètent le fléau que représente le paludisme en Afrique et plus particulièrement en Afrique subsaharienne. Dans cette région, les conditions climatiques sont particulièrement favorables au développement des anophèles dont les complexes *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus* sont les principaux vecteurs. De plus les pays

endémiques sont souvent en proie à de grandes difficultés économiques et sociales, dans lesquels règnent insécurité alimentaire et inaccessibilité aux soins. Le paludisme s'ajoute à ce fardeau et représente un sérieux obstacle au développement économique et social des communautés.

L'épidémiologie des infections plasmodiales et la gravité de la maladie dépendent du niveau d'exposition à la transmission, du statut immunitaire des personnes infectées, de l'accès aux soins, de l'efficacité des traitements antipaludiques et de la lutte anti-vectorielle.

L'épidémiologie du paludisme est également caractérisée par une forte hétérogénéité spatiale et les dynamiques de transmission peuvent varier entre deux villages proches géographiquement ou parfois même au sein d'un même village (Rogier, 2003).

Les causes exactes de cette importante hétérogénéité ne sont toujours pas entièrement mises à jour. Cependant de nombreux facteurs influençant cette disparité spatiale de la transmission ont été identifiés. Ils ont trait aux trois protagonistes, l'homme, le vecteur et le parasite, et peuvent être répertoriés en fonction (Molineaux, 1988):

- des caractéristiques génétiques et biologiques des souches parasitaires
- de la sensibilité génétique, immunologique et comportementale de l'homme
- de la distribution des anophèles et leur capacité vectorielle
- de l'environnement local (contexte socio-économique et méthodes individuelles de lutte).

Il est bien évident que les interactions entre ces facteurs sont nombreuses.

Les différentes zones impaludées peuvent être réparties suivant le statut épidémiologique de la transmission, à savoir sa périodicité (stable ou instable) et son intensité (évaluée par la prévalence parasitaire).

Les zones de paludisme dites stables sont classiquement caractérisées par une transmission généralement élevée et une saison de transmission longue ou pérenne.

Dans les zones de paludisme dites instables, la transmission est généralement saisonnière et peut varier d'une année à l'autre. On peut voir apparaître dans ces zones des poussées épidémiques.

L'intensité de transmission peut également être estimée de manière entomologique à partir du nombre de piqûres infectantes reçues par l'homme dans un intervalle de temps défini. Cette mesure est exprimée en EIR (Entomologic Inoculation Rate). Bien qu'il n'existe pas de classification des zones endémiques à partir de l'EIR, il a été constaté une relation étroite entre intensité de la transmission et le taux d'endémicité (Killeen *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2006). Ainsi, il a été proposé :

- Hypo-endémicité : $EIR < 10$ piqûres infectantes/homme/an
- Méso-endémicité : $10 \leq EIR < 50$ piqûres infectantes/homme/an
- Hyper-endémicité : $50 \leq EIR < 100$ piqûres infectantes/homme/an
- Holo-endémicité : $EIR \geq 100$ piqûres infectantes/homme/an.

Dans la région afro-tropicale, le paludisme stable, holo- et hyper-endémique touche au moins 60% de la population d'Afrique de l'ouest, centrale et orientale.

2.2 Le pathogène : Plasmodium falciparum

Le paludisme est causé par un parasite protozoaire appartenant au genre *Plasmodium*. Les quatre espèces prépondérantes infectant l'Homme sont *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, et *P. ovale*. Les plasmodiums sont des parasites intracellulaires obligatoires.

L'espèce la plus fréquente et la plus virulente en Afrique sub-saharienne est l'espèce *falciparum*.

Le cycle évolutif de cet hématozoaire est complexe et nécessite deux hôtes : l'homme, et un vecteur, la femelle hématophage d'un moustique du genre *Anopheles*.

D'un point de vue strictement biologique, la femelle anophèle représente l'hôte définitif puisque c'est à l'intérieur de son duodénum que s'achève la phase sexuée du parasite. L'homme est alors considéré comme hôte intermédiaire.

Schématiquement, le cycle du *Plasmodium* se décompose en deux phases : une phase asexuée chez l'homme et une phase sexuée qui débute chez l'homme et se complète chez le moustique (figure 6).

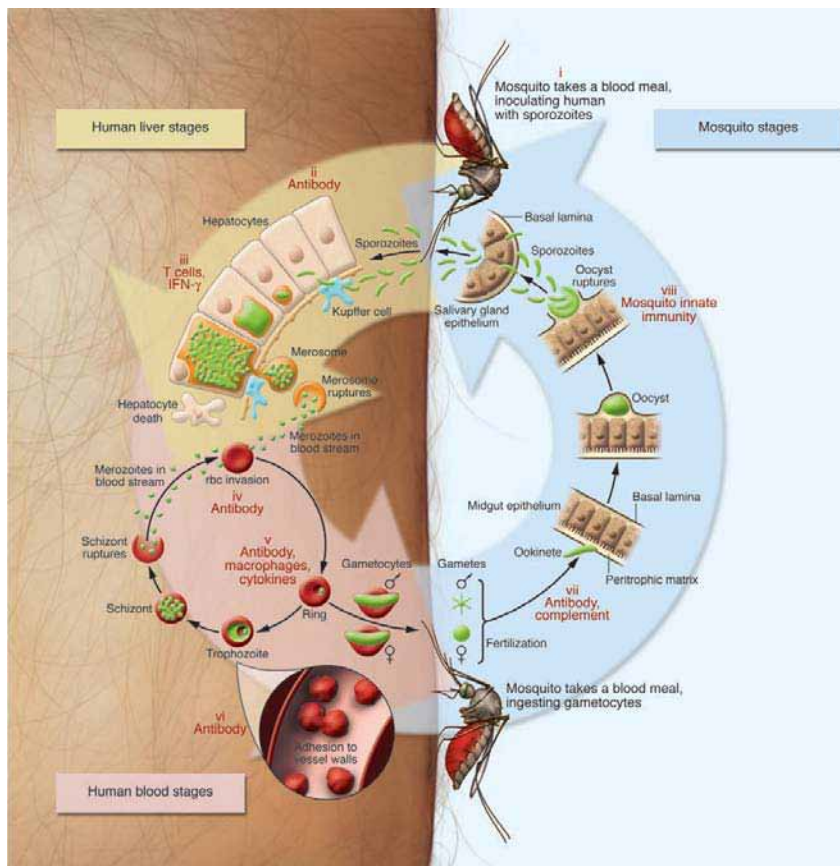


Figure 6: Cycle évolutif du *Plasmodium*. Source: Greenwood, JCI, 2008

2.2.1 La phase asexuée chez l'Homme

2.2.1.1 Le cycle exo-érythrocytaire

Au cours de son repas sanguin, la femelle anophèle infestée injecte à l'Homme des centaines de parasites, sous forme de sporozoïtes fusiformes (8 à 12 μ de long). Ces

sporozoïtes ne restent dans la circulation sanguine qu'une demi-heure et gagnent rapidement le foie (Greenwood *et al.*, 1991) dans lequel va se dérouler le cycle exo-érythrocytaire (schizogonie hépatocytaire).

Les sporozoïtes pénètrent dans les hépatocytes où ils entreprennent un processus complexe de multiplication et de développement. Le schizonte tissulaire ainsi formé augmente de volume pour atteindre 45 à 60 μm de diamètre. Le noyau se divise plusieurs fois et chaque noyau fils s'entoure de cytoplasme et constitue un mérozoïte d'environ 1 à 2 μm . A la fin de la maturation, le schizonte éclate et libère plusieurs milliers de mérozoïtes (deuxième forme libre du parasite) dans la circulation sanguine où ils vont infecter des hématies (phase érythrocytaire).

La durée de la schizogonie exo-érythrocytaire est caractéristique de l'espèce, avec une durée minimale de maturation de 5,5 jours chez *P. falciparum*.

2.2.1.2 Le cycle érythrocytaire

Le cycle érythrocytaire se déroule à l'intérieur du globule rouge et comporte deux phases : une phase de multiplication asexuée, la schizogonie érythrocytaire, suivie d'une phase de différenciation sexuée, la gamétocytogénèse.

i. La schizogonie érythrocytaire

Les mérozoïtes pénètrent dans les hématies hôtes et se différencient en une forme trophozoïte, arrondie, localisée dans la vacuole parasitophore à l'intérieur du cytoplasme érythrocytaire. Le trophozoïte mesure entre 2 et 3 μm et possède une volumineuse vacuole nutritive qui refoule en périphérie son cytoplasme et son noyau. Le trophozoïte grossit, son noyau se divise. Il se transforme alors en schizonte qui se charge de pigment malarique ou hemozoïne. La durée totale de cette phase de développement intra-érythrocytaire est de 48h pour *P. falciparum*.

La multiplication des noyaux dont chacun s'entoure d'une plage cytoplasmique forme un schizonte mûr ou un corps en rosace. Parallèlement, l'hémoglobine se dégrade, et dans l'hématie parasitée, apparaissent des taches de Maurer.

Le corps en rosace dilaté et mûr éclate, libère des mérozoïtes qui vont parasiter des hématies vierges et effectuer de nouveaux cycles schizogoniques érythrocytaires. Lors de l'éclatement des rosaces, l'hémozoïne libérée est phagocytée par des polynucléaires neutrophiles ou des monocytes, qui deviennent métallifères.

La répétition du cycle schizogonique érythrocytaire entraîne une augmentation progressive de la parasitémie qui peut atteindre, puis dépasser, le seuil pyrogène (seuil d'apparition de la fièvre) et entraîner l'apparition des manifestations cliniques de l'accès palustre.

ii. La gamétocytogénèse

Dans le sang s'amorce enfin le cycle sexué ou sporogonique. Après plusieurs cycles schizogoniques, certains trophozoïtes vont être détournés du cycle érythrocytaire pour

former des gamétocytes qui représentent alors la première étape d'une phase sexuée chez l'hématozoaire. A maturité, les gamétocytes restent sous forme libre dans le sang périphérique de l'homme.

Les gamétocytes ne vont continuer leur développement que s'ils sont ingérés par un anophèle femelle lors de son repas sanguin chez l'homme infecté. C'est donc en changeant d'hôte que le plasmodium peut continuer son cycle.

La distribution des stades érythrocytaires dans le sang n'est pas toujours homogène (White *et al.*, 1992). Dans certaines circonstances, certains stades parasites sont retenus (ou « séquestrés ») dans les capillaires profonds de différents tissus ou organes (cerveau, cœur, rate, intestin, moelle osseuse et placenta) et disparaissent ainsi du sang périphérique.

2.2.2 La phase sexuée chez l'anophèle

En prenant son repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle femelle ingère des trophozoïtes, des schizontes, des rosaces, des gamétocytes. Les formes sanguines asexuées sont détruites par les enzymes digestives du moustique et seuls les gamétocytes assurent la poursuite du cycle.

Dans l'estomac du moustique, les gamétocytes mâles et femelles s'échappent rapidement de leur enveloppe érythrocytaire pour se transformer, dans l'intestin moyen du moustique, en micro-gamètes (après exflagellation pour les mâles) ou macro-gamètes (pour les femelles). Les gamètes fusionnent et la fécondation aboutit à la formation d'un zygote dans la demi-heure qui suit la prise du repas sanguin. Le zygote se transforme en ookinète, de forme allongée et mobile, qui va migrer au travers de plusieurs cellules épithéliales du mésentère pour s'enkyster dans la paroi stomacale formant un oocyste. S'ensuit alors la phase de sporogonie qui permet l'individualisation de sporozoïtes haploïdes. Cette phase dure environ une dizaine de jours. Puis les sporozoïtes passent dans l'hémolymphe. Certains d'entre eux sont détruits par les mécanismes immunitaires du moustique alors que d'autres migrent passivement jusqu'au glandes salivaires de l'anophèle pour s'y fixer. Les sporozoïtes s'accumulent ainsi dans les glandes salivaires rendant la femelle anophèle infectieuse. Ainsi, lors de son prochain repas sanguin, celle-ci inoculera à son hôte mammifère, les sporozoïtes du *Plasmodium* contenus dans sa salive.

La durée du cycle sporogonique est directement dépendante de la température extérieure moyenne. La durée des cycles s'allonge quand la température diminue : à 25°C le cycle de *P. falciparum* est de 13 jours ; à 20°C, il est de 30 jours et il n'est plus réalisé en dessous de 18°C (Mouchet *et al.*, 2004).

2.3 Pathogénèse des différentes formes de paludisme à Plasmodium falciparum

La symptomatologie du paludisme dépend de la virulence du parasite et du niveau d'immunité acquise par l'individu infecté. Il a également été suggéré que des facteurs génétiques pourraient conditionner la sensibilité des individus à l'infection plasmodiale (Kwiatkowski, 1999).

De plus, certaines études ont montré que les caractéristiques génétiques des parasites détectés au cours de périodes asymptomatiques diffèrent de celles des parasites responsables des épisodes cliniques, ce qui suppose que l'infection par des populations de *P. falciparum* dépendrait des caractéristiques génétiques à la fois du parasite et de l'hôte (Rogier, 2003).

2.3.1 Le paludisme de primo-invasion

Lorsqu'une personne est piquée pour la première fois par un moustique anophèle infecté, on parle de primo-invasion correspondant aux premiers cycles de développement endo-érythrocytaire du parasite. Les premiers jours qui suivent sont sans symptôme, c'est la période d'incubation pendant laquelle les parasites circulent jusqu'au foie et s'y installent pour s'y développer. Chez les individus non immuns le délai d'apparition des symptômes après une piqûre infectante est variable : entre 7 et 30 jours. Apparaissent ensuite les premiers signes cliniques: une fièvre modérée et continue apparaît progressivement, sans périodicité particulière, et s'accompagne généralement de troubles digestifs (diarrhées, nausées ou vomissements). Une anorexie, des céphalées et des myalgies peuvent être présentes. Cette primo-invasion évolue fréquemment en un accès palustre simple mais elle peut également aboutir à la forme sévère du paludisme : accès perniciosus ou neuro-paludisme, en particulier chez les sujets non-immuns et chez les jeunes enfants.

2.3.2 Accès simple

La phase d'état succède rapidement à la primo invasion et donne lieu à une symptomatologie dont la périodicité est évocatrice. Les accès de fièvre à 39 – 40°C interviennent de manière intermittente, tous les deux jours (fièvre tierce maligne), précédés de symptômes évoquant un épisode grippal qui se caractérise par la succession de trois phases : frissons – chaleur – sueurs. On observe parfois une hépatomégalie et une splénomégalie.

Du point de vue physiologique, la fièvre, au cours de l'accès simple, est due à l'éclatement des schizontes mûrs induisant la rupture des hématies et libération dans la circulation sanguine du pigment malarique qui est pyrogène. La rate, organe lymphoïde secondaire rentre en hyperactivité, ce qui engendre la splénomégalie. Le foie est

également sollicité pour l'activité phagocytaire des cellules de Kupffer chargées de transformer l'hémoglobine libérée en bilirubine, induisant une hépatomégalie.

Un accès dû à *P. falciparum* peut à tout moment se transformer en accès pernicieux en particulier chez les enfants et les individus non ou peu immuns.

De multiples hypothèses ont été avancées pour expliquer les causes d'une évolution vers un accès grave (Greenwood *et al.*, 1991). L'inoculum initial, éventuellement engendré par plusieurs piqûres d'anophèles, pourrait raccourcir le délai d'apparition de fortes parasitémies, qui serait alors trop bref pour permettre à l'enfant de développer une réponse immunitaire adaptée et suffisante pour contrôler la multiplication des parasites.

La virulence des souches, qui peut être variable, a également été évoquée. Cette virulence pourrait s'exprimer à travers la capacité de la souche à induire la sécrétion du TNF- α (Tumor Necrosis Factor) par les cellules de l'hôte, ce dernier étant impliqué dans la physiopathologie de l'accès pernicieux.

Une autre hypothèse suggère également que la sensibilisation au parasite prédisposerait l'individu à la survenue d'un accès grave. La production d'interféron- γ par les cellules immunitaires activées potentialiserait l'activation de monocytes à produire du TNF- α .

La chimiorésistance des souches pourrait également avoir un impact sur le risque d'évolution vers un accès grave : la persistance du parasite malgré le traitement augmenterait le risque d'évolution vers une complication.

Des facteurs associés à l'hôte humain, tels que la sensibilité génétique ou immunologique, peuvent également influencer le devenir d'un accès palustre.

2.3.3 Accès grave

Dans le cas du paludisme à *P. falciparum*, l'accès peut évoluer rapidement vers une complication grave, dont deux syndromes ont été principalement décrits : le neuropaludisme ou paludisme cérébral et l'anémie sévère. Il semble que la parasitémie élevée soit une composante nécessaire à la sévérité de l'accès.

2.3.3.1 Anémie sévère

L'anémie est généralement définie comme un taux d'hémoglobine inférieur à 110 g/L de sang et l'anémie est dite sévère lorsque ce taux descend en dessous de 80 g/L de sang. Dans les zones de transmission intense du paludisme, l'anémie sévère est beaucoup plus fréquente que le paludisme cérébral. L'anémie pernicieuse ou anémie sévère liée au paludisme est définie comme un taux d'hémoglobine inférieur à 50 g/L de sang ou un hématokrite inférieur à 0,15, associé à une parasitémie supérieure à 10 000 parasites par μ L de sang (Lamikanra *et al.*, 2007).

L'anémie sévère associée au paludisme est une des causes majeures d'hospitalisation et de mortalité des enfants d'Afrique sub-saharienne (Murphy *et al.*, 2001, Biemba, 2000 #149). Bien qu'une parasitémie élevée soit nécessaire, la densité parasitaire ne peut pas présager le risque de décès par anémie (Kitua *et al.*, 1997). En Afrique, le pic de

mortalité par anémie grave survient à un plus jeune âge que le pic de mortalité par neuropaludisme (entre 6 mois et 2 ans pour l'anémie, 2 à 3 ans pour le neuropaludisme) (Greenwood, 1997). La physiopathologie de l'anémie est multifactorielle, impliquant à la fois une destruction globulaire et une réduction de l'érythropoïèse, mais elle dépend également de facteurs nutritionnels.

2.3.3.2 Accès pernicieux ou neuropaludisme

Le terme de neuropaludisme est réservé au syndrome consistant en des troubles de la conscience (ou "coma") en association avec une infection à *P. falciparum*, dans une situation où les autres étiologies possibles ont été exclues (par exemple convulsions fébriles, hypoglycémie, médication sédatrice, méningo-encéphalopathies virales, bactériennes ou fongiques, septicémie). L'apparition de symptômes de type neurologique chez un malade suspecté de paludisme doit faire évoquer immédiatement un neuropaludisme et constitue une urgence vitale. Les formes graves surviennent essentiellement chez des sujets non immuns et/ou pour 90% des cas chez des enfants très jeunes. Le neuropaludisme représente la complication majeure de l'infestation à *Plasmodium falciparum*. La détection et le traitement immédiat du neuropaludisme est un facteur majeur de survie. Sans prise en charge immédiate et adéquate, le taux de mortalité du neuropaludisme est de 10 à 30%.

Parmi les enfants qui survivent à un neuropaludisme, 5 à 20% présentent des risques de séquelles neurologiques et de moindre développement psychomoteur (Holding *et al.*, 2001; Murphy *et al.*, 2001; Mung'Ala-Odera *et al.*, 2004). Il semblerait que le portage asymptomatique du parasite soit associé à une baisse des facultés cognitives et des performances scolaires (Al Serouri *et al.*, 2000).

i. Signes cliniques

On regroupe sous le terme de neuropaludisme toutes les manifestations neurologiques, conséquences de l'atteinte cérébrale au cours de l'accès palustre. La phase d'initiation du neuropaludisme peut être progressive ou brutale.

Le neuropaludisme à début progressif est marqué par l'installation d'une fièvre irrégulière et d'un syndrome algique diffus associé à des troubles digestifs. L'examen clinique peut déjà révéler une composante neurologique faisant évoquer l'évolution vers un neuropaludisme.

Le neuropaludisme à début brutal se traduit par une triade symptomatique (fièvre, coma, convulsions) à laquelle s'ajoute fréquemment une détresse respiratoire. Cette forme brutale est fréquente chez le jeune enfant en zone d'endémie et peut entraîner la mort en quelques heures.

La phase d'état se caractérise par une fièvre, souvent très élevée, et par divers symptômes cliniques pouvant associer :

- troubles de la conscience : constants mais d'intensité variable, allant de la simple obnubilation au coma profond. Le coma est généralement calme, sans rigidité de

nuque (ou très discrète), sans photophobie, accompagné d'une abolition du réflexe cornéen ;

- convulsions : nettement plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte, elles peuvent être généralisées ou localisées, espacées dans le temps ou au contraire réaliser un état de mal convulsif ;
- troubles du tonus : hypotonie évoluant vers une rigidité de décérébration et une abolition des réflexes ostéo-tendineux.

Les signes neurologiques peuvent dominer le tableau clinique ou être associés à d'autres manifestations viscérales. Pratiquement tous les organes peuvent être atteints, notamment les reins, les poumons, le foie, etc... Le tableau est parfois celui d'une défaillance multiviscérale. Par ailleurs, le neuropaludisme s'accompagne fréquemment d'une hypoglycémie, facteur aggravant renforcé par l'utilisation de la quinine, hyperinsulinémiante (Krishna *et al.*, 1994).

Sans traitement l'évolution du neuropaludisme peut être fatale en 72h. Une prise en charge immédiate et adaptée (perfusion de quinine) permet un rapide rétablissement. Toutefois même après une prise en charge adaptée, 10 à 30% des cas de neuropaludisme sont mortels. Le pronostic global repose essentiellement sur la rapidité du diagnostic.

ii. Physiopathologie du neuropaludisme

De nombreux facteurs jouent certainement des rôles spécifiques mais intriqués dans la physiopathologie du neuropaludisme, caractérisé par la séquestration d'érythrocytes parasités dans les micro-vaisseaux cérébraux et les troubles métaboliques et immunitaires qui en résultent.

Quelques éléments de pathogénie peuvent être distingués :

- l'obstruction de la microcirculation locale, conséquence à la fois d'une moindre déformabilité et d'une forte adhésion des hématies parasitées à l'endothélium vasculaire (médiée par des protéines parasitaires), responsable de la séquestration;
- l'augmentation de perméabilité des capillaires cérébraux à l'origine de l'œdème ;
- la mort par apoptose des cellules endothéliales.

De plus, il est, aujourd'hui, suggéré que la contribution de chacun de ces éléments de physiopathogénie diffère entre l'adulte et l'enfant (Idro *et al.*, 2005).

La séquestration des hématies parasitées est considérée comme un des principaux mécanismes à l'origine du neuropaludisme et conduit à différents phénomènes : blocage des micro-vaisseaux cérébraux, hypoxie, sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, aboutissant à la destruction de la barrière endothéliale cérébrale (Mackintosh *et al.*, 2004). La cytoadhérence est le principal mécanisme de la séquestration et correspond à une cytoadhésion entre les hématies parasitées et les cellules endothéliales des micro-vaisseaux cérébraux. A ce phénomène d'adhésion des hématies parasitées sur les cellules endothéliales s'ajoute celui d'auto-agglutination (adhésion de plusieurs hématies

parasitées entre elles) et celui de la formation de rosettes (adhésion d'une hématie parasitée à d'autres hématies non parasitées) (Mackintosh *et al.*, 2004). La cytoadhérence permettrait ainsi au plasmodium de se développer plus facilement grâce à un environnement gazeux favorable et d'échapper à la clearance splénique.

Cette cytoadhésion se fait par l'intermédiaire de récepteurs membranaires parasitaires spécifiques (PFEMP1, protéine parasitaire à la surface du globule rouge) et des récepteurs de l'hôte (CD36, ICAM1...) exprimés au niveau de l'endothélium (Beeson *et al.*, 2002).

Différentes souches de *P. falciparum* sont plus ou moins cytoadhérentes à une gamme de récepteurs différents, mais il paraît évident que, si la capacité d'adhésion est effectivement une caractéristique nécessaire, elle n'est pas suffisante pour expliquer à elle seule l'évolution de l'infection vers un neuropaludisme. Les effets du Tumor Necrosis Factor, (en synergie avec d'autres cytokines pro-inflammatoires) dans la régulation et l'augmentation des récepteurs d'adhérence des cellules endothéliales, est un autre facteur contribuant à la pathogénèse du neuropaludisme chez des sujets susceptibles.

La physiopathologie du neuropaludisme, très complexe, n'est pas entièrement élucidée et certains phénomènes, comme l'absence de relation évidente entre parasitémie et risque cérébral, n'admettent pas encore d'explication complètement satisfaisante.

2.4 Les vecteurs de Plasmodium falciparum

Un insecte vecteur est un « arthropode hématophage qui assure la transmission biologique active d'un agent pathogène d'un vertébré à un autre vertébré ». Il permet à l'agent pathogène d'achever son cycle de développement et très souvent d'opérer une multiplication intense. Les vecteurs s'infectent activement lors d'un repas sanguin et transmettent le pathogène lors de repas ultérieurs.

Les relations homme/vecteur, agent pathogène/vecteur et homme/agent pathogène définissent des systèmes vectoriels dépendant du milieu, de facteurs génétiques, écologiques et humains évoluant au fil du temps (Pichard *et al.*, 2002). Pour être efficace, le vecteur doit être compétent, il doit être suffisamment abondant afin de créer une bio-écologie favorable à la transmission ; il doit également avoir une grande longévité et entretenir des contacts étroits avec les mammifères réservoirs et réceptifs. Tous ces facteurs permettent d'augmenter la capacité vectorielle qui exprime à la fois le degré de co-adaptation entre parasite et vecteur et le fonctionnement du système ainsi formé dans un environnement donné (Rhodain, 1985).

Les quatre espèces de plasmodium infectant l'Homme sont transmises par la femelle des moustiques du genre *Anopheles*. Plus de 450 espèces d'anophèles ont été dénombrées dans le monde, mais seules 70 à 80 peuvent être considérées comme des vecteurs (Mouchet *et al.*, 2004). En Afrique, une dizaine d'espèces est concernée. Les complexes *An. gambiae* et *An. funestus* assurent la majeure partie de la transmission en Afrique tropicale, *An. nili* et *An. moucheti* jouant aussi un rôle important dans des régions

limitées. Ces espèces sont connues pour leur grande capacité vectorielle (définie par le nombre potentiel de cas secondaires de paludisme issus par jour d'un cas primaire en supposant que la population est et reste entièrement susceptible). Ceci explique la forte endémicité palustre en Afrique.

Seule l'anophèle femelle est hématophage. La durée de vie de la femelle anophèle varie entre 2 et 4 semaines. Les anophèles restent localisés près de leur lieu de naissance, c'est-à-dire à moins de 300 m du gîte larvaire, excepté en cas de vent. Après sa fécondation, 48h au plus tard après son éclosion, la femelle anophèle se met à la recherche d'un repas sanguin sur l'hôte de son choix. La maturation des œufs dépend en effet de la présence de sang dans le tube digestif, d'où les habitudes hématophages obligées de la femelle de ces moustiques qui prend un repas de sang tous les deux ou trois jours (Wery *et al.*, 1995). Ce cycle de reproduction découpe la vie de ce moustique femelle en périodes de 48 à 72h qui se suivent sans interruption et qui chacune comprennent, un repas de sang, une période de repos et de maturation des œufs, la ponte à la surface de l'eau.

Les anophèles ont essentiellement une activité nocturne. Certaines espèces piquent en début de nuit mais la plupart se nourrissent entre 23h et 3h, en revenant de pondre. Un certain nombre de spécimens, en particulier les femelles nullipares, qui ne sont pas retardées par la ponte, piquent en début de nuit. L'heure de piqûre, comme tous les éléments du comportement des anophèles, présente de grandes différences d'une population à l'autre, voire d'un individu à l'autre, d'un site à l'autre et même d'une saison à l'autre (Mouchet *et al.*, 2004). Il a été observé que les anophèles infectées par *Plasmodium* piquent plus longtemps et plusieurs hôtes, tandis que les non-infectées piquent rarement plus d'une fois par nuit (Mathews *et al.*, 1996).

Le régime alimentaire des anophèles dépend des espèces, certaines sont strictement anthropophiles ou zoophiles mais la plupart des espèces se nourrissent indifféremment sur l'Homme ou les animaux.

Le repas de sang peut être pris dans la maison de l'hôte, on parle de comportement endophage ou à l'extérieur de l'habitation pour les anophèles exophages. Après leur repas de sang, certains anophèles restent dans la même maison pendant toute la durée du cycle gonotrophique, ils sont dites endophiles. Au contraire, d'autres espèces quittent rapidement les maisons pour trouver des refuges extérieurs, ces anophèles sont dits exophiles. Certaines espèces ont un comportement intermédiaire entre ces deux comportements « extrêmes ».

2.5 Principales stratégies de lutte contre le paludisme

Devant le fardeau que représente le paludisme, tant du point de vue des pertes humaines que de l'entrave au développement des sociétés, de nombreux programmes

d'intervention ont été mis en place par les organismes de santé internationale afin de réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme.

La lutte contre le paludisme nécessite une approche intégrée, dirigée à la fois contre le parasite (*Plasmodium*) et contre les vecteurs (*Anopheles*). Cette approche se fonde donc principalement sur deux méthodes complémentaires :

- la réduction de la charge parasitaire
- la lutte anti-vectorielle.

La réduction de la charge parasitaire implique le traitement des cas dépistés et diagnostiqués, la chimioprophylaxie et les stratégies vaccinales.

La lutte anti-vectorielle s'appuie sur la réduction des populations de vecteurs et du contact homme-vecteur grâce à l'utilisation de moustiquaires, d'insecticides, mais aussi par des mesures d'assainissement et d'aménagement du milieu.

Ainsi ces moyens de lutte et cette prise en charge aussi bien au niveau préventif que curatif a pour objectif direct ou indirect la diminution de la morbidité et de la mortalité palustres (figure 7).

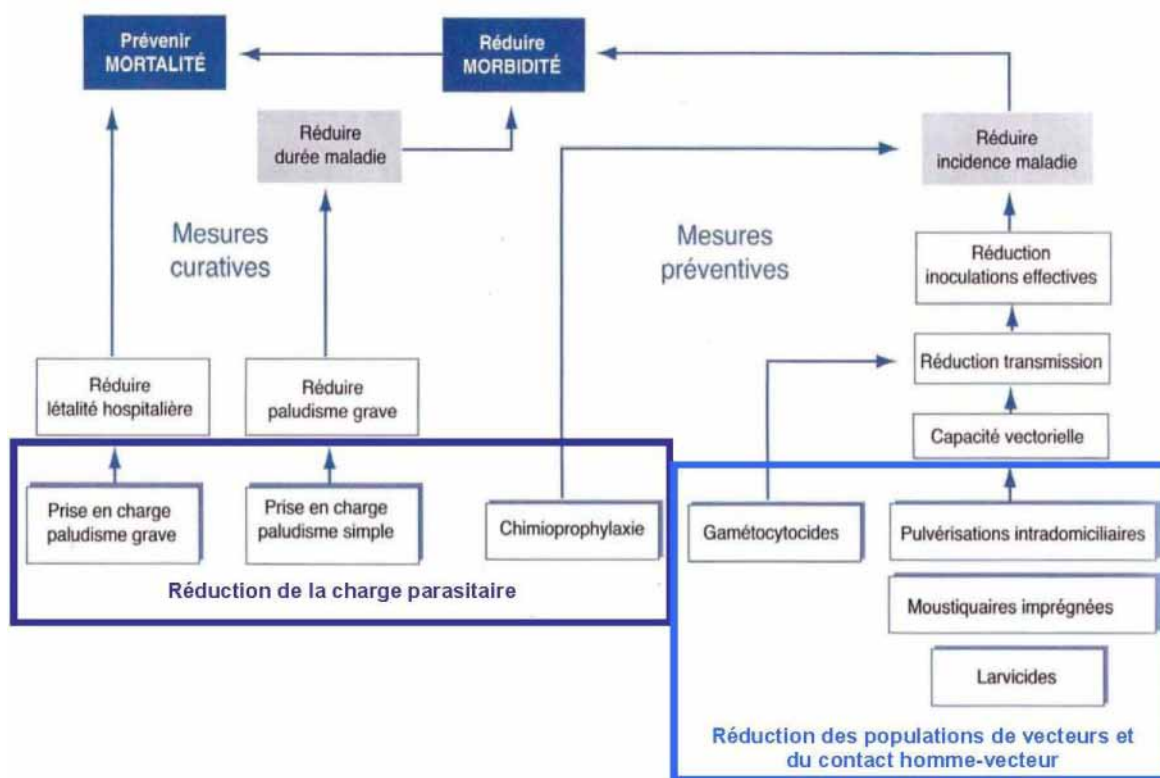


Figure 7: Objectifs, résultats et activités de la lutte antipaludique.

Source: Mouchet *et al.* Biodiversité du paludisme dans le monde, Eds. John Libbey Eurotext, 2004

2.5.1 Réduction de la charge parasitaire

Les objectifs principaux de la diminution de la charge infectieuse se situent aussi bien au niveau individuel que communautaire.

En effet, au niveau individuel, la réduction de la charge parasitaire a pour objectif de diminuer la mortalité et prévenir les séquelles neurologiques des accès palustres graves. Les accès palustres non traités ou traités tardivement peuvent avoir des conséquences

irréversibles et entraîner le décès de l'individu infecté. Ainsi, il s'avère indispensable de diagnostiquer le plus rapidement possible les personnes infectées et de les traiter avec des molécules efficaces ayant fait preuve d'innocuité. Ainsi, cette prise en charge rapide et adaptée permet de réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme.

Au niveau communautaire, la réduction de la charge parasitaire permet de prévenir la transmission du plasmodium aux autres individus. En effet, la proportion de moustiques porteurs du parasite dans une localité se révèle être en rapport avec le nombre de personnes infestées et infestantes vivant à cet endroit. L'Homme apparaît alors comme un réservoir de l'infection. La réduction de la charge parasitaire au niveau individuel conditionne la diminution de la transmission au niveau de la localité. Ainsi en réduisant la charge parasitaire au niveau individuel, on diminue également la morbidité et la mortalité au niveau communautaire.

2.5.1.1 Le diagnostic

Réaliser un diagnostic rapide, sensible et spécifique représente l'une des étapes cruciales dans la prise en charge de la morbidité et de la mortalité palustres.

Le diagnostic du paludisme, reposant uniquement sur l'observation de manifestations cliniques, se révèle être faiblement spécifique. En effet, les symptômes évocateurs de la crise palustre, fièvre, céphalées, frissons, anorexie, sont communs à de nombreuses pathologies. De plus, la pertinence des critères lors d'un diagnostic clinique dépend à la fois de l'intensité de la transmission et des autres causes communes de fièvre qui sévissent dans la zone.

La méthode de référence, reconnue comme le meilleur moyen de diagnostic actuel, repose sur la mise en évidence du parasite dans le sang par détection microscopique. Ces techniques permettent la prise en charge précoce des accès palustres car elles permettent de poser un diagnostic dans l'heure qui suit le prélèvement sanguin.

En général, la détection microscopique du parasite dans le sang doit venir confirmer ou infirmer la suspicion de paludisme basée sur les manifestations cliniques d'un accès.

Les deux techniques de référence dans la détection microscopique sont le frottis sanguin et la goutte épaisse. La réalisation et la conclusion de ces tests ne peuvent être réalisées que par des techniciens de laboratoire qualifiés.

La technique de la goutte épaisse est 20 à 30 fois plus sensible que le frottis et permet de détecter de très faibles parasitémies. Elle permet également le calcul de l'intensité d'infection.

Le frottis sanguin permet d'identifier l'espèce de *Plasmodium* qui cause l'infection. Connaître l'espèce plasmodiale infestante permet d'envisager l'évolution potentielle et la gravité de la maladie. En effet, dans le cas d'une infection à *Plasmodium falciparum*, il faut être très vigilant face à l'éventualité d'un neuropaludisme.

Ces deux techniques permettent d'également d'estimer la prévalence, la densité parasitaire et l'indice gamétocytaire.

Toutefois, ces deux méthodes présentent certaines limites.

En effet, afin de pouvoir déceler de façon fiable des parasitémies faibles, et en préciser la ou les espèces, la lecture du frottis sanguin ou de la goutte épaisse nécessite des techniciens de laboratoire compétents et expérimentés. Ces deux techniques requièrent donc un temps important de lecture et d'entraînement. De plus, la distribution des formes sexuées et asexuées des *Plasmodii* n'est pas homogène dans le flux sanguin (White *et al.*, 1992). Les hématies parasitées par les trophozoïtes âgés de *P. falciparum* disparaissent habituellement de la circulation périphérique vers la 24^{ème} heure du cycle et sont séquestrées dans les capillaires d'organes profonds comme le cerveau, le coeur, la rate, les intestins, la moelle osseuse ou le placenta. La variabilité de la densité parasitaire mesurable par des frottis sanguins ou des gouttes épaisses chez un enfant, peut être importante. Des variations d'un facteur 100 à 1000 de la densité parasitaire à *P. falciparum*, en l'espace de quelques heures, ne sont pas rares, même en l'absence de manifestation clinique (Delley *et al.*, 2000). En définitive, l'application effective de ces méthodes (frottis et gouttes épaisses) dont l'apprentissage reste compliqué, pourrait être limitée dans les pays d'endémie palustre et surtout en Afrique, pour des raisons à la fois épidémiologiques et logistiques.

En complément de ces deux techniques, il a récemment été mis au point des tests de diagnostic rapide (TDR) réalisés à partir de bandelettes chromatographiques. Ces bandelettes auto-réactives contiennent des anticorps monoclonaux spécifiques d'antigènes plasmodiaux. Ils font appel à la détection de l'AgHRP2 (Histidin Rich Protéine 2) spécifique de *Plasmodium falciparum*, des enzymes LDH (lactate deshydrogénase) et aldolase. Certains tests détectent uniquement l'antigène HRP2, d'autres l'antigène HRP2 et une aldolase commune aux 4 espèces plasmodiales, d'autres encore l'antigène HRP2 et une LDH spécifique de *P. vivax* et une LDH commune à toutes les espèces plasmodiales. Cependant les TDRs permettant d'identifier les espèces autres que *falciparum* sont considérablement plus coûteux.

Le principe des TDRs consiste à déposer l'échantillon de sang à tester à l'une des extrémités de la bandelette recouverte d'une membrane de nitrocellulose. Si l'antigène recherché est présent, il va se lier avec un anticorps marqué le plus souvent à l'or colloïdal. Sous l'effet d'un tampon lyse-migration, les complexes antigènes-anticorps et les anticorps libres marqués migrent par capillarité. Les complexes antigènes-anticorps sont arrêtés sur une première bande par des anticorps de capture fixés sur la membrane. Apparaît alors une première ligne colorée. L'excès d'anticorps n'ayant pas fixé d'antigène va continuer à migrer et va être immobilisé par un anticorps (anti-lapin ou anti-souris) au niveau d'une deuxième bande. L'accumulation des complexes colorés va là aussi entraîner l'apparition d'une ligne colorée. Cette seconde ligne, ou ligne contrôle, valide le bon fonctionnement de la réaction. En cas de réaction négative, seule la ligne contrôle doit être colorée. L'apparition des bandes est rapide en 15 mn.

L'un des principal avantage de cette technique, hormis sa rapidité, est le fait qu'elle ne nécessite pas de technicien de laboratoire qualifié ni de matériel particulier tel qu'un

microscope. Sa spécificité s'approche de celle de la goutte épaisse. Cependant, elle ne permet pas la numération des hématies parasitées. Les TDR sont souvent très utiles pour le dépistage mais se révèlent moins précis que la microscopie.

Le test peut être mis en défaut par les faibles parasitémies, l'association avec un *P. vivax* ou par une forte proportion de gamétocytes. Un résultat négatif du test n'exclut pas la présence éventuelle de *P. vivax*, *P. ovale* ou *P. malariae*.

L'antigène HRP-2 peut être détectable à la suite d'un traitement médical, alors que les parasites ne sont plus visibles dans le sang à l'examen microscopique.

Ces tests de diagnostic rapide sont très intéressants mais ils ne remplacent en aucun cas l'examen d'un frottis sanguin. Ils doivent lui être associés.

Il existe également d'autres méthodes dites de diagnostic indirect telles que la sérologie, la recherche d'antigènes ou la détection d'acides nucléiques parasitaires. Les techniques basées sur la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) sont plutôt utilisées en recherche car peu adaptées au diagnostic du paludisme sur le terrain. Très sensible, la PCR permet de détecter moins de 10 parasites dans 10 µL de sang. Elle est essentiellement utilisée pour sa capacité à différencier les échecs thérapeutiques des réinfections et à identifier les différentes souches de *Plasmodium* dans une zone d'étude.

Le diagnostic final d'une crise palustre repose donc actuellement sur la présentation de symptômes cliniques associés à la présence de parasites dans le sang.

Toutefois, en fonction de la transmission et de l'endémicité de la zone, les résultats de la détection microscopique des parasites devront être interprétés différemment. En effet, dans les zones où la transmission est intense et pérenne, il est courant que la majeure partie de la population soit porteur asymptomatique du parasite. Ainsi, les cas cliniques sont plus souvent associés à de fortes densités parasitaires. Au contraire dans des zones de faible endémicité, une crise palustre peut être diagnostiquée pour de plus faibles parasitémies.

Le dilemme du diagnostic est donc de fixer un seuil de densité parasitaire en deçà duquel les manifestations cliniques ne sont pas attribuées à une crise palustre.

Dans ses directives (OMS, 2006), l'OMS indique qu'en zone de transmission faible à modérée et/ou instable, une confirmation parasitologique du parasite est recommandée, basée sur les techniques de détection microscopique ou les TDR. Dans ces zones où l'endémicité du paludisme n'est pas très élevée, la probabilité qu'un épisode fébrile soit dû au paludisme est plutôt faible. La confirmation parasitologique (goutte épaisse, frottis sanguin ou TDR) est donc nécessaire afin de ne pas diagnostiquer et traiter à tort un sujet présentant de la fièvre au risque de voir son état s'aggraver à cause du traitement inadapté.

En zone de forte transmission pérenne, le risque qu'un épisode fébrile soit lié au paludisme est beaucoup plus élevé en particulier chez les enfants de moins de cinq ans. Dans ce cas, l'OMS préconise de traiter par antipaludiques tout enfant de moins de cinq

ans présentant de la fièvre ou un antécédent de fièvre sans toute autre cause évidente (OMS, 2006). Toutefois, chez les sujets plus âgés qui acquièrent petit à petit une «immunité de prémunition», l'OMS recommande la confirmation de la suspicion de paludisme par détection parasitologique.

Cependant, parce que le paludisme est un fléau qui peut très rapidement terrasser les sujets infectés, le traitement par antipaludique des personnes présentant des symptômes évocateurs de crise reste encore l'approche la plus raisonnable lorsque la détection parasitologique n'est pas réalisable.

Cette approche, par conséquent, est à l'origine d'une surestimation des crises palustres qui engendre un traitement inadapté des épisodes fébriles. Une méta-analyse regroupant 24 études a montré que parmi les sujets diagnostiqués cliniquement pour une crise de paludisme, 32 à 93% avaient en réalité une goutte épaisse négative, avec une moyenne de 61% sur les 24 études considérées (Amexo *et al.*, 2004). De nombreuses études ont également démontré que 25 à 40% des patients vivant en zone d'endémie étaient diagnostiqués aux dispensaires ou dans les hôpitaux comme souffrant de paludisme sans confirmation parasitologique (Bremam *et al.*, 2007).

Cette surestimation des cas et l'utilisation à tort d'antipaludiques sont lourdes de conséquences, à la fois sur le pronostic des pathologies non décelées, sur le coût des nouvelles molécules antipaludiques disponibles, et également sur l'émergence de la résistance aux traitements.

2.5.1.2 Le traitement

Longtemps utilisée comme traitement de première ligne des accès palustres, la chloroquine est aujourd'hui inefficace dans la majeure partie des zones d'endémie. Les premiers cas identifiés de résistance de *Plasmodium* à la chloroquine remontent aux années 1950 en Asie du sud-est et en Amérique du sud (Farooq *et al.*, 2004). La résistance à la chloroquine s'est ensuite largement étendue à travers le monde. A la fin des années 1980, la résistance à la chloroquine était présente dans la plupart des pays d'Afrique sub-saharienne. L'augmentation et la diffusion de cette résistance semblent être une des causes majeures de l'augmentation des décès liés au paludisme (Trape *et al.*, 2002). Pour faire face à l'inefficacité de la chloroquine, la sulfadoxine-pyriméthamine et l'amodiaquine ont fait leur apparition dans le traitement des crises palustres dès les années 1960. Cependant l'émergence et l'augmentation rapide de la résistance à ces molécules vient considérablement compliquer le traitement des accès palustres. L'utilisation intensive et parfois non-spécifique de ces molécules peu chères, facilement accessibles et présentant une bonne innocuité, est probablement l'une des raisons ayant favorisé l'émergence de la résistance du parasite aux anti-paludiques.

Toutefois, certaines études menées au Malawi ont montré que les souches de *P. falciparum* immuno-résistantes à la chloroquine peuvent redevenir sensibles à cette molécule après un arrêt d'utilisation pendant plusieurs années (Kublin *et al.*, 2003).

Dans les années 1970, des chercheurs chinois isolent l'artémisine, substance active extraite des feuilles de l'armoise annuelle (*Artemisia annua*), une plante de la famille des ambrosies. On la trouve en abondance dans le sud de la Chine et elle est également cultivée dans certains pays africains. L'*Artemisia annua* est utilisée depuis des milliers d'années par la médecine traditionnelle chinoise pour traiter la fièvre et le paludisme. Depuis une dizaine d'années, la mise au point des dérivés de l'artémisinine, dont les plus connus sont l'artésunate, l'artéméther et le dihydroartémisinine, ont fourni une nouvelle classe d'antipaludiques très efficaces (Haynes, 2001). Dans le but d'améliorer l'issue du traitement mais également de contrer le risque de résistance de *P. falciparum* aux monothérapies, l'OMS recommande désormais l'utilisation de combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (ACT) pour le traitement des accès simples de *P. falciparum*.

Ces composés ont une action thérapeutique très rapide, efficace contre le paludisme à *P.falciparum* poly-chimiorésistant et bien tolérée par les malades. Ces molécules présentent également l'avantage de diminuer le portage des gamétocytes, qui par conséquent permet de réduire la transmission du paludisme en particulier dans les zones de faible endémicité où plupart des cas sont symptomatiques (White, 2008).

Afin de traiter les accès graves de paludisme, deux classes de médicament sont actuellement utilisées en traitement parentéral : les alcaloïdes du quinquina (quinine et quinidine) et les dérivés de l'artémisinine.

2.5.1.3 La prophylaxie médicamenteuse

Cette stratégie préventive a fait l'objet de nombreuses recherches depuis plus d'un siècle. Au départ basée sur l'administration de traitements de masse, elle a ensuite évolué vers la mise au point d'une prophylaxie utilisant les doses thérapeutiques minimales permettant la protection des individus les plus à risque (Greenwood, 2004).

Pour aborder une telle stratégie, il est nécessaire de définir clairement les termes employés qui s'y rapportent (Greenwood, 2006). En effet, le terme chimioprophylaxie signifie au sens large l'administration de substances chimiques dans le but de prévenir l'apparition d'une maladie ou de ses manifestations. Cependant ce terme a une signification bien précise dans le cas de la prévention contre le paludisme. Ainsi, on parle de chimioprophylaxie, lorsqu'il s'agit de l'administration d'un antipaludique dont la concentration dans le sang doit être maintenue supérieure à la concentration nécessaire pour inhiber le développement du parasite pendant toute la période à risque d'infection. L'utilisation de doses thérapeutiques ou sub-thérapeutiques dépend de la pharmacocinétique de la molécule administrée.

Le traitement de masse fait référence à l'administration d'un traitement thérapeutique d'antipaludiques à l'ensemble d'une population à risque, quelque soit leur statut infecté, dans le but essentiel d'interrompre la transmission.

Le traitement préventif intermittent (TPI), parfois appelé traitement présomptif intermittent, implique l'administration d'une dose thérapeutique d'antipaludiques à

l'ensemble de la population à risque, indépendamment du statut infecté des individus, à des intervalles de temps définis et réguliers dans le but de prévenir la morbidité et la mortalité.

Contrairement à la chimioprophylaxie, les concentrations d'antipaludiques utilisées dans le TPI diminuent pendant la période qui sépare l'administration de deux doses. Ces concentrations se retrouvent alors inférieures à la concentration nécessaire pour inhiber le développement du parasite.

Bien que ces trois termes soient précisément et distinctement définis, il peut exister une certaine confusion liée à la conception des essais à proprement parler. Si un traitement de masse est administré à l'ensemble de la population à risque de façon répétée, à des intervalles de temps réguliers, on peut alors parler de traitement préventif intermittent. Si, ajouté à cela, la molécule antipaludique administrée a une longue durée d'action, le traitement de masse s'apparente à de la chimioprophylaxie.

Ainsi pour éviter d'éventuelles ambiguïtés on parlera de chimioprévention pour désigner l'ensemble des stratégies préventives impliquant des antipaludiques.

Actuellement, la chimioprévention est principalement utilisée chez les individus les plus vulnérables face au paludisme, à savoir, les voyageurs non-immuns, les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes (en particulier les primipares) vivant en zone d'endémie.

Bien qu'ayant prouvé son efficacité dans la réduction de la morbidité et de la mortalité liées au paludisme (Geerligts *et al.*, 2003), la chimioprophylaxie n'a pas été appliquée à grande échelle pour plusieurs raisons :

- elle favoriserait l'émergence de la résistance aux molécules administrées
- chez les enfants, elle diminuerait l'acquisition d'une immunité de prémunition
- elle s'avère assez difficile à mettre en œuvre.

Actuellement, la chimioprévention passe par la mise en place de traitements préventifs intermittents (TPI). Centrés au départ sur les populations vivant en zone de transmission intense et pérenne, ce mode de chimioprévention est aujourd'hui adapté aux zones de transmission saisonnière du paludisme afin de minimiser l'émergence de résistances. De plus, les interventions concernant la mise au point de TPI utilisent aujourd'hui des combinaisons de molécules qui devraient également permettre de réduire l'apparition de souches chimio-résistantes du parasite.

i. La femme enceinte

Malgré d'importantes différences en fonction de la transmission, on note de façon constante l'implication majeure du paludisme dans l'anémie maternelle et la fréquence des nouveaux nés souffrant d'insuffisance pondérale (Duffy *et al.*, 2005).

Jusqu'à la fin des années 1990, la chimioprophylaxie chez la femme enceinte en Afrique sub-saharienne était basée sur l'administration hebdomadaire de chloroquine. Ce mode de prévention plutôt contraignant s'accompagnait très souvent d'une mauvaise compliance. De plus, l'administration régulière et continue de chloroquine pendant la

grossesse souleva le problème de l'augmentation de la prédisposition au paludisme au cours des grossesses suivantes (Greenwood *et al.*, 1994). Afin de rendre la prévention plus efficace et de faire face à l'étendue de la résistance à la chloroquine, les stratégies de chimioprévention se sont orientées vers des protocoles plus faciles à mettre en œuvre basés sur une administration intermittente de doses thérapeutiques d'antipaludiques quelque soit le statut infecté : les traitements préventifs intermittents (TPI).

Qu'elles présentent ou non des symptômes de paludisme, le TPIp (Traitement Préventif Intermittent « in pregnancy ») consiste à administrer aux femmes enceintes des doses thérapeutiques d'antipaludiques à intervalles de temps réguliers et définis, au cours des consultations anténatales après le premier trimestre de grossesse. Ce traitement préventif permet de réduire considérablement le risque d'anémie chez la mère ainsi que l'insuffisance pondérale à la naissance (Cot *et al.*, 2003). Fin 2006, 33 des 45 pays africains avaient adopté le TPIp comme politique nationale (OMS, 2008).

L'OMS recommande actuellement l'utilisation de la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) dans le cadre du TPIp. Cependant, devant l'augmentation de la résistance de *Plasmodium* à la SP, il s'avère urgent d'utiliser d'autres associations thérapeutiques pour la prévention du paludisme (Briand *et al.*, 2007).

ii. Les enfants de moins de cinq ans

Dans les zones de transmission intense et pérenne du paludisme, où la majeure partie de la mortalité et de la morbidité palustres affectent les enfants dans leur première année de vie, le traitement préventif intermittent des nourrissons (TPIi, i=infants) a révélé une réelle efficacité dans la diminution de la morbidité et de la mortalité liées au paludisme. Ainsi, une étude en Tanzanie a montré que l'administration d'une dose thérapeutique de SP aux nourrissons lors de leur 2^{ème} et 3^{ème} séance de vaccination a engendré une réduction de 59% de l'incidence des crises palustres et de 50% l'incidence d'anémie sévère dans la première année de vie (Schellenberg *et al.*, 2001). De plus ce TPI chez les nourrissons n'a pas engendré d'augmentation de la morbidité palustre (effet rebond) chez ces enfants dans l'année suivant le traitement (Greenwood, 2004).

Dans les zones de transmission saisonnière, qui représentent 50% de la population à risque, ce sont les enfants au-delà d'un an qui sont les premières victimes du paludisme. Le concept de traitement préventif intermittent a donc récemment fait l'objet d'études et d'essais cliniques chez les enfants de moins de cinq ans (TPIc, c=children) vivant dans ces zones de transmission intense et saisonnière (Greenwood, 2004).

En 2006, un essai contrôlé randomisé a été mené dans une zone rurale du Sénégal afin d'évaluer l'efficacité d'un traitement préventif intermittent saisonnier administré aux enfants de moins de cinq ans (Cisse *et al.*, 2006). Cette intervention consistait en l'administration d'une dose mensuelle combinant SP et artesunate pendant les trois mois du pic de transmission du paludisme. Ce traitement préventif s'est révélé très efficace en réduisant de 86% le nombre d'accès palustres chez les enfants ayant bénéficié du

traitement préventif sans induire d'effet rebond lors de la saison de transmission suivante (Cisse *et al.*, 2006).

En 2005-2006, une intervention conduite au Ghana a également évalué l'impact du TPIc dans une zone de transmission intense et saisonnière du paludisme chez 2451 enfants âgés de 3 à 59 mois (Kweku *et al.*, 2008). Cette étude a consisté en un essai randomisé pour tester l'efficacité de trois types de TPI en comparaison à un placebo sur l'incidence de l'anémie et des crises palustres au cours des six mois de la saison de transmission. Les trois types de traitements attribués aux enfants de façon aléatoire sont :

- artesunate + amodiaquine (AS+AQ) : une dose mensuelle
- artesunate + amodiaquine : une dose tous les deux mois
- sulfadoxine-pyriméthamine (SP) : une dose tous les deux mois.

Dans cette intervention la morbidité palustre a été détectée de façon passive aux postes de santé.

Les résultats de cette étude indiquent que chez les enfants traités, la combinaison AS+AQ mensuelle a permis de diminuer de 69% l'incidence des crises palustre et de 45% celle de l'anémie en comparaison aux enfants ayant reçu le placebo. Les deux autres traitements se sont révélés moins efficaces.

Une autre étude, menée dans une zone rurale au sud-ouest du Mali, a évalué l'efficacité du TPI consistant en l'administration de deux doses de SP lors du pic de transmission du paludisme (Dicko *et al.*, 2008). Cet essai randomisé a inclus 262 enfants âgés de 6 mois à 10 ans.

La morbidité palustre a été suivie activement, par passages hebdomadaires au domicile, et passivement aux postes de santé.

Les résultats de cet essai ont mis en évidence une diminution de 42,5% de l'incidence annuelle des crises palustres, sans générer d'effet rebond lors de la saison de transmission suivante.

Le TPI est en grande partie assimilable à une chimioprophylaxie à dose thérapeutique, espacée, et de courte durée. Le nombre restreint de prises d'antipaludiques sur lequel repose cette nouvelle approche préventive génère un coût modeste et une mise en œuvre facilitée.

L'efficacité de ce type de stratégie au niveau de la santé publique et la sensibilité de *P. falciparum* aux antipaludiques administrés, sont actuellement en cours d'évaluation au Sénégal dans le cadre du programme national de lutte contre le paludisme. Ainsi, sur trois années, ce sont plus de 100 000 enfants qui recevront un traitement préventif intermittent saisonnier.

Aujourd'hui, le TPI fait partie intégrante des programmes de Prévention Saisonnière du Paludisme (PSP) qui allient distribution de moustiquaires et distribution de médicaments antipaludiques préventifs.

2.5.2 Réduction des populations de vecteurs et du contact

homme-vecteur

Après la découverte, dans les années 1940, des insecticides résiduels de synthèse, des programmes à grande échelle ont réussi à endiguer un grand nombre d'importantes maladies à transmission vectorielle. A la fin des années 1960, la plupart des maladies à transmission vectorielle, à l'exception du paludisme en Afrique, n'étaient plus considérées comme des problèmes de santé publique majeurs. En conséquence, les programmes de lutte ont cessé leurs activités, les ressources dévolues à la lutte se sont amenuisées et les spécialistes de la lutte anti-vectorielle ont disparu des services de santé publique. En l'espace de deux décennies, on a assisté à la réémergence ou à la propagation à de nouvelles zones de nombreuses maladies à transmission vectorielle importante. La forte recrudescence au cours de ces dernières années de maladies transmises par des insectes vecteurs constitue aujourd'hui une préoccupation majeure de santé publique. Désormais, la lutte contre le paludisme, et les maladies à transmission vectorielle en général, s'oriente vers des méthodes visant, non plus à éradiquer les populations d'insectes nuisibles, mais à réduire et à contrôler leur densité en dessous d'un seuil épidémiologiquement tolérable.

Cette nouvelle approche s'appuie sur des méthodes de lutte intégrée comprenant l'éducation sanitaire des populations humaines et l'aménagement de l'environnement, mais aussi l'utilisation raisonnée d'insecticides chimiques ou d'origine biologique.

La réduction du contact homme-vecteur consiste en la mise en place de barrières mécaniques (moustiquaires) ou chimiques (pulvérisations intradomiciliaires) ou de modification du comportement humain.

Lorsque la capacité vectorielle est faible (c'est-à-dire lorsque le potentiel de transmission du paludisme est bas), l'aménagement du milieu, l'amélioration de l'habitat et le détournement des anophèles vers les animaux peuvent avoir un impact sur la transmission. L'efficacité de ces méthodes se trouve limitée dans le cas de capacité vectorielle élevée.

La lutte anti-vectorielle intégrée offre un cadre conceptuel solide au déploiement de méthodes peu onéreuses et durables de lutte contre le paludisme. Elle constitue un élément technique fondamental et s'avère être un des moyens les plus efficaces pour prévenir la transmission.

La lutte contre les populations d'anophèles peut s'exercer à différents stades du cycle de développement du moustique. De manière générale, la lutte anti-vectorielle vise essentiellement les larves ou/et les adultes.

i. La lutte anti-larvaire

Ce moyen de lutte qui vise à détruire les larves ou/et empêcher leur développement a été très utilisé avant l'arrivée massive des adulticides.

Cette lutte est bénéfique quand les gîtes sont limités en nombre, facilement identifiables et faciles d'accès. Ce qui se révèle particulièrement difficile avec les vecteurs du paludisme. Les méthodes utilisées dans la lutte anti-larvaire se classent en trois catégories :

- l'aménagement de l'environnement : travaux de drainage et d'hygiène péri-domestique
- la lutte chimique par le traitement de gîtes larvaires avec des insecticides chimiques (cette technique est la plus utilisée)
- la lutte biologique impliquant utilisation de prédateurs tels que des poissons larvivores (Fillinger *et al.*, 2003).

La lutte génétique visant à réduire la densité des populations de moustiques par modification de leur patrimoine génétique ou par leur autodestruction est pour l'instant limitée à la recherche (Christophides, 2005).

ii. La lutte anti-adulte

Egalement appelée lutte imagocide, elle a pour objectif de réduire les densités de moustiques agressifs et la réduction de la longévité des femelles. Cette stratégie s'appuie principalement sur l'utilisation de répulsifs ou d'insecticides à effet rémanent. Les moyens mis en œuvre sont de deux sortes :

- aspersions intra-domiciliaires ou imprégnation de moustiquaires
- pulvérisations spatiales extra-domiciliaires.

La lutte imagocide présente l'avantage d'être applicable à de plus vastes zones géographiques que la lutte anti-larvaire plus spécifique et plus localisée.

Les insecticides utilisés dans le cadre de la lutte anti-adulte appartiennent à trois grands groupes de composés chimiques : les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates. Ces insecticides ont, toutefois montré un grand nombre de limites en particulier concernant leur toxicité et leur bio-accumulation.

Le DDT est le plus connu et le plus utilisé de ces insecticides. Son utilisation intensive débuta lors de la seconde guerre mondiale par les militaires afin de contrôler les insectes vecteurs du paludisme et du typhus. En 1955, l'OMS met en place un programme mondial d'éradication du paludisme reposant principalement sur l'utilisation du DDT. Celui-ci s'avère être un succès et contribue fortement à l'éradication du paludisme en Europe, en Amérique du nord, au Japon, au Brésil... Cependant les premières résistances apparaissent dès 1946. L'utilisation en masse (agriculture) et non contrôlée du DDT engendre alors des conséquences dramatiques sur l'environnement. La toxicité du DDT et sa bioaccumulation dans la chaîne alimentaire conduisent à l'abandon de son utilisation en 1969.

Cependant, le DDT s'avère hautement efficace et représente un faible rapport coût/efficacité dans la lutte contre le paludisme. En 2006, dans un communiqué de presse, « L'OMS recommande désormais la pulvérisation d'insecticide à effet rémanent (DDT) à l'intérieur des habitations, non seulement dans les zones d'épidémie palustre

mais aussi dans celles où la transmission de la maladie est constamment élevée, notamment dans toute l'Afrique ». Ainsi, son utilisation sous étroite surveillance est actuellement ré-introduite dans certains programmes de lutte.

L'utilisation des pyréthrinoïdes est fortement encouragée du fait de leur rémanence prolongée et de leur faible toxicité pour les hommes et l'environnement. Ces insecticides allient un effet répulsif et létal pour les insectes (Guillet *et al.*, 2001).

La résistance aux insecticides que développent les anophèles constitue à nouveau la limitation majeure de l'utilisation de telles substances. Ces difficultés suscitent de nouvelles réflexions sur les stratégies de lutte contre les moustiques adultes qui mettent en avant le concept d'association à une protection individuelle.

iii. Les moustiquaires imprégnées

Bien que les moustiquaires non traitées soient depuis longtemps utilisées pour se protéger des piqûres de moustiques, l'avènement des moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII) a considérablement augmenté leur efficacité, ajoutant au mécanisme de barrière physique, un effet répulsif et létal vis-à-vis des moustiques. L'action répulsive des pyréthrinoïdes empêche le moustique de se gorger au travers de la moustiquaire et d'y pénétrer lorsque celles-ci sont trouées après un certain temps d'utilisation.

Dans la mesure où la plupart des anophèles piquent la nuit, et à l'intérieur des maisons, les MII sont considérés par l'OMS comme le meilleur outil de protection individuel contre le paludisme et ceci quelque soit le contexte épidémiologique.

De plus, les MII en empêchant les moustiques de se nourrir, réduisent le potentiel reproducteur des espèces très anthropophiles et par conséquent diminuent les populations de vecteur. Ainsi, ces moustiquaires apportent une protection à la fois individuelle et collective. Si elles sont utilisées à l'échelle d'une communauté, avec une couverture supérieure à 80%, elles entraînent une diminution de la transmission palustre en réduisant la densité vectorielle, la durée de vie du moustique, ainsi que les indices sporozoïtiques (Carnevale *et al.*, 1988; Gimnig *et al.*, 2003). De nombreuses études ont permis de montrer que l'utilisation des MII permet de réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme parfois même dans les zones où les moustiques sont devenus fortement résistants aux pyréthrinoïdes (Henry *et al.*, 2005). Ainsi, une étude menée en Gambie a montré que la mortalité des enfants de moins de cinq qui dormaient sous moustiquaire était diminuée de 60% (Alonso *et al.*, 1993).

Une fois encore, le développement de la résistance des anophèles aux insecticides d'imprégnation des moustiquaires (Chandre *et al.*, 1999; N'Guessan *et al.*, 2007) mais également l'implication supposée dans la diminution de l'acquisition de l'immunité contre le paludisme (Muller *et al.*, 2006) ont remis en cause l'efficacité des MII comme stratégie unique de prévention (Trape, 2001). Pour pallier à ces problèmes, de nouvelles méthodes d'imprégnation ont été mis en place. Il s'agit notamment de l'utilisation d'un répulsif seul ou associé à un insecticide non pyréthrinoïde (Pennetier *et al.*, 2007) et de l'association

d'un pyrétrinoïde et de produits appelés synergistes inhibant les enzymes de détoxification des insecticides.

La lutte anti-vectorielle s'est révélée durablement efficace dans les zones où le niveau de transmission était initialement faible. Toutefois, dans les zones de forte endémie où la capacité vectorielle est élevée, ces moyens de lutte doivent être complétés par d'autres moyens tels que la chimioprévention, l'éducation sanitaire, la prise en charge efficace de la morbidité et la mise en œuvre de stratégies vaccinales.

2.5.3 Les vaccins

L'objectif ultime d'un vaccin antipaludique est de réduire l'incidence de l'infection dans toutes les régions du monde et, en Afrique, de réduire la mortalité chez les moins de cinq ans, l'incidence de l'anémie chez la mère et l'enfant et l'incidence des naissances prématurées.

Depuis des dizaines d'années la vaccination contre le paludisme suscite un grand intérêt mais la complexité des mécanismes immunologiques mis en jeu rendent difficile sa mise au point. Plusieurs obstacles s'élèvent dans l'élaboration d'un vaccin antipaludique : l'existence de plusieurs espèces de parasites, de plusieurs stades de développement du parasite (hépatique, sanguin, sexuel) et de différents mécanismes d'évasion immunitaire. Par ailleurs, le caractère non prédictif des modèles animaux, l'absence de corrélats immunologiques de la protection, la grande variabilité antigénique des différentes souches plasmodiales et l'absence critique d'un consensus sur les méthodes d'évaluation compliquent encore cette mise au point.

Il existe à l'heure actuelle pas moins de 94 candidats vaccins antipaludiques, dérivés d'une vingtaine d'antigènes seulement.

Les cibles d'un vaccin antipaludique peuvent se situer aux stades pré-érythrocytaires, aux stades sanguins asexués ou sexués du parasite. De ces stades dépend l'effet attendu du vaccin et le type de réponse immune susceptible d'être protectrice.

2.5.3.1 Vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire

Les vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire ont pour objectif de prévenir l'infection des hépatocytes et/ou de détruire les hépatocytes infectés en induisant la production d'anticorps neutralisant contre les sporozoïtes ou les schizontes hépatiques. Le but ultime étant d'empêcher toute libération de mérozoïtes dans le sang. Afin de pouvoir induire une immunité chez les sujets naïfs, ce type de vaccin doit être efficace à 100%, au risque de ne retarder que de quelques heures à quelques jours l'apparition des manifestations de la maladie. A l'heure actuelle, le vaccin de ce type le plus avancé dans la phase de développement est le candidat vaccin RTS,S. Ce vaccin a pour but d'induire une réponse anticorps dirigée contre une protéine majeure du stade sporozoïte : la CSP (CircumSporozoïte Protein).

Récemment, un essai clinique de phase II mené au Kenya et au Mozambique, a montré des résultats très prometteurs concernant le candidat vaccin RTS,S/AS01 chez les enfants âgés de 5 à 17 mois (Bejon *et al.*, 2008). Le risque de crise palustre a été diminué de 56% sur une période moyenne de huit mois suivant l'administration de la 3^{ème} dose de vaccin. Ces résultats viennent confirmer ceux déjà obtenus lors d'essais conduits en 2001 et 2004, concernant le candidat RTS,S/AS02 qui diffère par l'adjuvant utilisé (Bojang *et al.*, 2001; Alonso *et al.*, 2004). Une de ces deux études suggérait même une réduction de 57% du risque de paludisme grave au cours des 6 premiers mois de suivi (Alonso *et al.*, 2004). De plus, cet effet protecteur sur la morbidité palustre aurait persisté au cours de l'année suivante (Alonso *et al.*, 2005).

Face au succès remporté par le candidat vaccin RTS,S des essais cliniques de phase III sont actuellement en cours dans sept pays d'Afrique.

D'autres antigènes comme TRAP (Thrombospondin-related adhesive protein), LSA-1 (Liver stage antigen – 1), LSA-3, SALSA (Sporozoite and liver stage antigen), STARP (Sporozoite threonine and asparagine rich protein) ou EXP-1 (Exported antigen 1) sont aussi inclus dans des vaccins contre les stades pré-érythrocytaires en cours de développement. Ces candidats vaccins visent à induire une réponse à médiation cellulaire T de type Th1 contre les schizontes hépatiques.

2.5.3.2 Vaccins dirigés contre les stades sanguins asexués

Les vaccins dirigés contre les stades sanguins asexués ont pour objectif de contrôler les densités plasmodiales circulantes, et/ou d'empêcher l'évolution des infections vers les formes cliniques et potentiellement graves de la maladie. La principale cible des vaccins contre les stades sanguins asexués est le mérozoïte. Cette forme du parasite est libérée par les schizontes hépatocytaires ou érythrocytaires et envahit les hématies. Ces vaccins visent donc à bloquer l'infection des hématies par les anticorps spécifiques et/ou à détruire les hématies infectées par une réponse cellulaire (cellules lymphocytes T). Les parasites à ces stades de développement asexués ne peuvent être atteints que par des anticorps, par des réponses à médiation cellulaire dépendantes des anticorps (ADCI & ADCC) ou par la lyse cellulaire dépendant du complément.

Les principaux antigènes candidats vaccins ayant atteint le stade des essais cliniques sont MSP-1 (Merozoite Surface Protein-1), MSP-3, AMA-1 (Apical membrane antigen-1), EBA-175 (Erythrocyte binding antigen) et GLURP (Glutamate rich protein). Les candidats vaccins en cours d'études précliniques sont MSP-2, MSP-4, MSP-5, RAP-2 (Rhoptry-associated protein), RESA (Ring infected erythrocyte surface antigen), SERA (Serine-repeat antigen), PfEMP-1 et une toxine GPI synthétique de *P. falciparum*.

Les résultats obtenus à partir de ces candidats vaccins indiquent que la vaccination pourrait induire l'acquisition d'un certain niveau d'immunité. Cependant, seuls des essais d'efficacité en zone d'endémie permettront de savoir si ces vaccins contre les stades érythrocytaires asexués sont capables de protéger contre les accès palustres ou les formes graves du paludisme.

2.5.3.3 Vaccins dirigés contre les stades sanguins sexués

Les vaccins contre le stade sexué visent à prévenir la transmission du paludisme en induisant la production d'anticorps qui permettraient de bloquer le développement du parasite chez le vecteur. Ce type de vaccin serait utile en combinaison avec des vaccins ciblant d'autres stades de développement du parasite. Les antigènes susceptibles de susciter la production d'anticorps bloquant la transmission comprennent Pfs230, Pfs48/45, Pfs27/25, Pfs28, Pfs25 et Pfs16. Ces vaccins seraient particulièrement utiles dans les zones de paludisme instable, où la transmission est naturellement faible et en complément d'interventions anti-vectorielles.

A l'heure actuelle, l'incapacité des différentes stratégies à éradiquer le paludisme, dans les zones où la transmission est stable et intense, est devenue une réalité.

Dans les zones endémiques, l'objectif est à présent de contrôler le paludisme par des approches intégrées combinant le diagnostic et le traitement efficace et précoce des cas, la lutte anti-vectorielle et la chimioprévention principalement axées sur le traitement préventif intermittent des enfants et des femmes enceintes. Un vaccin antipaludique permettrait de limiter le coût des traitements et le risque d'émergence des résistances.

Ces dernières années, les programmes nationaux de lutte antipaludique ont adopté bon nombre de stratégies préventives et curatives recommandées par l'OMS. Ainsi, un grand nombre de pays se sont engagés à fournir gratuitement des moustiquaires imprégnées aux femmes enceintes et aux enfants, à privilégier les ACT (*Artemisinin-based combination therapy* : combinaisons à base d'artémisinine) pour le traitement des cas et à mettre en place de façon systématique le traitement préventif intermittent chez les femmes enceintes. Cependant, dans son dernier rapport (OMS, 2008), l'OMS dévoile que cet engagement n'est pas suffisamment appliqué, limitant considérablement l'accès aux stratégies préventives pour une grande partie des populations à risque.

2.6 Impact du paludisme sur le développement

Le paludisme et la pauvreté sont intimement liés (Gallup *et al.*, 2001). Le paludisme, comme la malnutrition, semble être à la fois une cause et une conséquence de la pauvreté. Cette imbrication est particulièrement difficile à gérer pour les pays et les populations les plus pauvres, qui n'ont accès ni aux mesures de prévention ni aux traitements.

2.6.1 Paludisme et coût économique pour les sociétés

L'impact du paludisme se chiffre autant en nombre de morts et en souffrance humaine qu'en coûts financiers. Son poids économique pèse sur les familles, les ménages et le budget national. Il ralentit la croissance économique, compromet le développement et entretient le cercle vicieux de la pauvreté.

Les pays qui ont réussi à faire reculer le paludisme en Afrique sont également les pays les plus riches du continent, au nord et au sud.

Entre 1965 et 1990, près d'un tiers des pays exposés à un risque élevé de paludisme ont eu une croissance négative (Gallup *et al.*, 2001). De plus, il a été estimé que ces pays ont une croissance environ cinq fois inférieure aux pays ayant un risque limité de transmission palustre.

L'OMS indique également que le paludisme, du fait des pertes en vie humaines et de la baisse de productivité, peut entraîner une diminution du taux de croissance annuel allant jusqu'à 1,3% dans les pays endémiques (OMS, 2009) et une perte de produit intérieur brut pour l'Afrique d'environ 12 milliards de dollars US.

Le coût direct du paludisme comprend les importantes dépenses publiques destinées à l'entretien des installations et des infrastructures de santé ainsi qu'à la mise en place de campagnes de contrôle et d'éducation.

Toujours selon l'OMS, dans certains pays fortement touchés, le paludisme représente à lui seul:

- jusqu'à 40% des dépenses de santé publiques;
- de 30 à 50% des hospitalisations;
- jusqu'à 60% des consultations externes.

A ce coût direct pour les sociétés s'ajoute un coût indirect lié à la morbidité et à la mortalité palustres. Celui-ci inclut la perte de productivité ou de revenu associée à la maladie ou au décès. Il peut s'exprimer en termes de coût des journées de travail perdues ou de l'absentéisme et de valeur du travail non rémunéré accompli à domicile par les hommes et par les femmes. En cas de décès, le coût indirect comprend le revenu futur escompté du défunt.

De plus, la majeure partie des revenus des pays fortement touchés par le paludisme repose sur la productivité agricole également affectée par le paludisme dans la mesure où la période de transmission coïncide souvent avec la période des cultures.

2.6.2 Paludisme et coût économique pour les ménages

Du point de vue des ménages, les souffrances et les décès liés au paludisme représentent souvent un réel fardeau économique pour les familles qui supportent seules les dépenses de santé. Ces dépenses comprennent l'achat de moustiquaires imprégnées, les honoraires médicaux, les médicaments antipaludéens, les frais de transport jusqu'aux centres de soins, les frais liés aux soins prodigués aux patients et les frais d'obsèques.

Un rapport édité par l'OMS en 2003 rapporte qu'au nord du Ghana les coûts des soins pour le paludisme représentent 34 % du revenu des ménages pauvres, ce qui représente des dépenses dramatiques pour les familles risquant de les faire basculer dans le cercle vicieux de la pauvreté (OMS, 2003).

De plus, les journées de travail perdues ont des répercussions directes sur les revenus des ménages.

Le paludisme peut également avoir des coûts indirects pour les familles et les ménages. L'absentéisme et les séquelles neurologiques, résultant des accès palustres graves, entravent la scolarisation et le développement social des enfants. Ceci n'est pas sans conséquence sur l'éducation, l'instruction, la réussite et plus tard la capacité des individus à subvenir aux besoins de leur famille.

Le développement économique des pays passe donc par l'éradication des maladies, telles que le paludisme, qui affectent les populations les plus vulnérables et affaiblissent les sociétés.

Chapitre 3 :

Interaction malnutrition-paludisme

L'interaction entre l'état nutritionnel des enfants et le paludisme a fait l'objet de nombreuses études depuis les années 1950. L'étude de cette relation se révèle complexe par l'aspect multifactoriel qui régit à la fois la malnutrition et le paludisme.

La plupart des études transversales visant à étudier l'association entre paludisme et malnutrition ne peuvent conclure sur le sens de l'association observée : est-ce le paludisme qui aggrave la malnutrition ou la malnutrition qui augmente le risque de paludisme ? Pour mieux comprendre cette interaction, il est essentiel d'étudier chacune de ces deux questions.

3.1 Impact de la morbidité palustre sur la malnutrition

L'influence des infections sur l'état nutritionnel est étudiée depuis des décennies. Le paludisme coexistant fréquemment avec la malnutrition, l'étude de son impact sur l'état nutritionnel a fait l'objet d'une attention plus particulière dès les années 1950.

3.1.1 Les études d'observation

Les premières études observationnelles montrèrent que le paludisme avait un effet délétère sur l'état nutritionnel et plus particulièrement sur le poids des enfants. Ainsi, il a été observé à plusieurs reprises que la première crise palustre chez les jeunes enfants en Afrique s'accompagnait d'une perte de poids (Garnham, 1949; Bruce-Chwatt, 1952).

D'autres études dans les années 70 ont montré que le paludisme était une des infections fortement impliquée dans la perte de poids (Frood, 1971) ou le plus faible gain de poids des enfants (Rowland *et al.*, 1977).

Afin d'observer l'effet du paludisme sur la malnutrition, certaines études ont comparé l'état nutritionnel d'enfants vivant dans de proches communautés différant par l'intensité de la transmission du paludisme (Faich *et al.*, 1975; Sharp *et al.*, 1980). Les résultats de ces études sont contradictoires et peu probants. Alors que l'étude conduite par Faich *et al.* en Amérique du sud suggère que l'état nutritionnel des enfants ne diffère pas selon leur exposition au paludisme, l'étude menée par Sharp *et al.* en Papouasie Nouvelle-Guinée, montre que le paludisme est un important facteur de risque de malnutrition chronique et de retard de croissance.

Une étude conduite sur l'île de Vanuatu en 1992-1993, incluant 1511 enfants âgés de moins de dix ans, a révélé que les crises de paludisme, liées à l'infection par *P. vivax*, augmentaient le risque d'émaciation et d'insuffisance pondérale des enfants (Williams *et al.*, 1997). Par ailleurs, les résultats de cette étude n'ont indiqué aucune association entre la morbidité palustre liée à *P. falciparum* et l'état nutritionnel des enfants.

En 2004, une étude d'observation, nichée dans une cohorte visant à étudier l'acquisition de l'immunité anti-palustre, a été menée au Kenya chez des enfants de moins de 8 ans (Nyakeriga *et al.*, 2004). L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la relation entre la morbidité palustre, enregistrée sur une période de six mois, et le développement ultérieur d'une malnutrition. Aucune association entre morbidité palustre et malnutrition

n'a été mise en évidence, bien que les résultats suggéraient un rôle du paludisme dans l'apparition de la malnutrition chez les enfants de moins de deux ans.

Les premières études d'observation s'accordent à dire que l'infection à *P. falciparum* aurait un effet délétère sur le poids des enfants, cependant les résultats d'études plus récentes semblent ne pas indiquer d'impact de la morbidité palustre sur l'état nutritionnel des enfants.

Ce désaccord pourrait en partie s'expliquer par les différences méthodologiques qui distinguent ces études, telles que l'âge des enfants, le faciès épidémiologique du paludisme (transmission, intensité), le type d'espèce infectante (*falciparum* vs. *vivax*).

Depuis les années 1950, les stratégies préventives contre le paludisme (chimioprophylaxie, moustiquaires, pulvérisation d'insecticide) connaissent un développement important. Les interventions mises en place pour évaluer l'efficacité de ces stratégies incluent généralement des groupes d'enfants contrôles et semblent donc particulièrement appropriées pour mettre en évidence l'influence directe du paludisme sur l'état nutritionnel des enfants (tableau 4).

3.1.2 Les études d'intervention

3.1.2.1 Impact de la chimioprophylaxie sur l'état nutritionnel

L'une de ces premières interventions a été conduite en 1956 incluant à la naissance 52 enfants gambiens randomisés en deux groupes : un groupe de 26 enfants recevant une chimioprophylaxie hebdomadaire de chloroquine et un deuxième groupe incluant 26 autres enfants recevant un placebo (McGregor *et al.*, 1956). Ces enfants furent suivis hebdomadairement pendant trois ans. A l'issue de ce suivi, les enfants du groupe recevant la chimioprophylaxie étaient légèrement plus grands que ceux du groupe recevant le placebo, mais ils présentaient un poids plus faible. Les différences observées entre les deux groupes n'étaient cependant pas significatives, probablement lié au faible nombre de sujets inclus dans chaque groupe.

En 1985, une autre intervention consistant à évaluer l'efficacité de la chimioprophylaxie chez les enfants de 0 à 36 mois, s'est déroulée au Nigeria dans une zone hyperendémique présentant une transmission saisonnière du paludisme (D'Alessandro *et al.*, 1995). Les résultats de cette étude suggéraient que les enfants ayant reçu une chimioprophylaxie pendant les trois premières années de vie étaient plus grands et avaient un poids supérieur aux enfants ayant reçu un placebo.

Bien que ces deux études montrent une tendance à l'amélioration de l'état nutritionnel des enfants ayant reçu une chimioprophylaxie, les différences observées ne sont pas significatives.

Tableau 4: Synthèse des études évaluant l'impact de la prévention du paludisme sur l'état nutritionnel

Référence	Pays/transmission du paludisme	Design de l'étude	Type de l'étude	Nombre de sujets	Age des sujets	Indice(s) nutritionnel(s)	Résultats
McGregor <i>et al.</i> 1956	Gambie/zone hyperendémique Transmission saisonnière	Suivi longitudinal : Mesures anthropométriques mensuelles	Intervention : randomisée traités/non-traités Chimio prophylaxie (chloroquine)	52	0 – 36 mois	Gain de poids Taille Masse musculaire	Les enfants ayant reçu la chimio prophylaxie ont une taille supérieure mais un poids légèrement inférieur aux enfants contrôles mais les différences ne sont pas significatives
Bradley-Moore <i>et al.</i> 1985	Nigeria/zone hyperendémique Transmission saisonnière	Suivi longitudinal : mesure tous les 3 mois après la naissance jusqu'à 18 ou 30 mois	Intervention : traités/non-traités Chimio prophylaxie (chloroquine)	383	0 – 24 mois	Taille/âge Poids/âge Poids/taille Tour de bras (exprimé en pourcentages de la référence NCHS)	Tendance des enfants recevant la chimio prophylaxie à avoir une taille et un poids supérieurs aux enfants contrôles
D'Alessandro <i>et al.</i> 1995	Gambie/zone hypoendémique Faible transmission saisonnière	Transversal répété avant et après intervention	Intervention : randomisée exposés/non-exposés Moustiquaires imprégnées	1500 avant intervention 1500 après intervention	1 – 9 ans	Mesurés uniquement post-intervention : WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Les enfants des villages ayant reçu les ITN ont des indices WAZ* et WHZ† significativement supérieurs à ceux des enfants vivant dans les villages contrôles Pas de différence de HAZ entre les 2 groupes
Shiff <i>et al.</i> 1996	Tanzanie/zone holoendémique Transmission pérenne	Transversal répété avant et après intervention + longitudinal pendant 5 mois 4 villages ITN ^{§§} 3 villages contrôles Tirage au sort des enfants avant et après intervention pour chaque groupe de villages	Intervention : exposés/non-exposés Moustiquaires imprégnées + traitement présomptif (chloroquine) aux dispensaires	338 avant intervention 426 après intervention	6 – 40 mois	WAZ* Gain de poids (référence NCHS)	Les enfants des villages ayant reçu les ITN ont un gain de poids supérieur aux enfants des villages contrôles (286g, IC95% [171-402]) <i>Prise en compte du traitement présomptif</i>

*Weight-for-age Z-Score: Poids/âge (Z-Score), † Weight-for-height Z-Score: Poids/taille (Z-Score), ‡ Height-for-age Z-Score: Taille/âge (Z-Score)

§ Mid upper-arm circumference-for-age Z-Score : Tour de bras (Z-Score)

§§ ITN : Insecticide Treated Nets : moustiquaires imprégnées, ** SP: sulfadoxine-pyriméthamine

Tableau 4 (suite)

Référence	Pays/transmission du paludisme	Design de l'étude	Type de l'étude	Nombre de sujets	Age des sujets	Indice(s) nutritionnel(s)	Résultats
Snow et al. 1997	Kenya Faible transmission saisonnière	Transversal répété (3 passages)	Intervention : Randomisée contrôlée exposés/non-exposés Moustiquaires imprégnées	1479	1 – 11 mois	WAZ* MAZ§ (référence NCHS)	Les enfants dormant sous ITN ont des indices WAZ* et MAZ§ significativement supérieurs à ceux des enfants contrôles.
Friedman et al. 2003	Kenya Transmission intense et pérenne	Transversal répété (4 passages)	Intervention : contrôlée randomisée (au niveau village) exposés/non-exposés Moustiquaires imprégnées	867	4 – 13 ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS) Indice de masse corporelle Tour de bras Pli cutané tricipital Pourcentage de masse maigre	Pas de différence significative des indices HAZ, WHZ et WAZ entre les deux groupes Seule la masse maigre est significativement plus élevée chez les enfants des villages ayant bénéficié des ITN
Ter Kuile et al. 2003	Kenya Transmission intense et pérenne	Suivi longitudinal : mesures anthropométriques mensuelles	Intervention : contrôlée randomisée (au niveau village) exposés/non-exposés Moustiquaires imprégnées + détection active et passive des crises palustres/ traitement présomptif (SP) **	833	0 – 24 mois	WAZ* WHZ† HAZ‡ MAZ§ (référence NCHS)	Les enfants des villages ayant reçu les ITN ont des indices WAZ* et MAZ§ significativement supérieurs à ceux des enfants des villages contrôles. En stratifiant sur l'âge cette différence n'est significative que pour les 0-11 mois. Les enfants dormant sous ITN ont un indice HAZ significativement supérieur à celui des enfants contrôles quelque soit l'âge
Ter Kuile et al. 2003	Kenya Transmission intense et pérenne	Transversal répété (3 passages)	Intervention : contrôlée randomisée (au niveau village) exposés/non-exposés Moustiquaires imprégnées + traitement présomptif (SP) ** au moment des passages	1890	3 – 35 mois	WAZ* WHZ† HAZ‡ MAZ§ (référence NCHS)	Les enfants des villages ayant reçu les ITN ont des indices WAZ* et MAZ§ significativement supérieurs à ceux des enfants des villages contrôles.

*Weight-for-age Z-Score: Poids/âge (Z-Score), †Weight-for-height Z-Score: Poids/taille (Z-Score), ‡ Height-for-age Z-Score: Taille/âge (Z-Score)

§ Mid upper-arm circumference-for-age Z-Score : Tour de bras (Z-Score), §§ ITN : Insecticide Treated Nets : moustiquaires imprégnées, ** SP: sulfadoxine-pyriméthamine

Tableau 4 (suite)

Référence	Pays/transmission du paludisme	Design de l'étude	Type de l'étude	Nombre de sujets	Age des sujets	Indice(s) nutritionnel(s)	Résultats
Nyakeriga <i>et al.</i> 2004	Kenya Faible transmission saisonnière	Suivi longitudinal hebdomadaire de la morbidité palustre + transversal répété (4 passages)	Observation + détection active des cas et traitement curatif (SP) ** des crises confirmées	340	< 8ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ MAZ§ (référence NCHS)	Pas d'association significative entre crises palustres et indices HAZ, WHZ et WAZ Tendance à une détérioration des indices WAZ et HAZ chez les enfants <2 ans souffrant de crises palustres.
Hung <i>et al.</i> 2005	Vietnam/zone hyperendémique Transmission saisonnière	Suivi longitudinal : Enquêtes transversales annuelles à la fin de la saison des pluies	Programme d'éradication du paludisme : Moustiquaires imprégnées Création d'un poste de santé Dépistage et traitement des crises de paludisme	764	Tous âges	WAZ* WHZ† HAZ‡ Indice de masse corporelle (référence NCHS)	Chez les sujets de moins de 23 ans, augmentation annuelle significative du HAZ et WAZ Rattrapage de croissance
Ntab <i>et al.</i> 2007	Sénégal Faible transmission saisonnière	Suivi longitudinal	Intervention : Traitement intermittent préventif saisonnier Contrôlé randomisé + Détection active et passive des cas et traitement présomptif (SP) **	1063	0-59 mois	WAZ* WHZ† HAZ‡ Indice de masse corporelle Plis cutanés tricipital et sous-scapulaire (référence NCHS)	Les enfants ayant reçu le TPI ont un gain de poids significativement supérieur à celui des enfants ayant reçu le placebo. La prévalence de l'émaciation augmente significativement dans le groupe placebo mais pas dans le groupe TPI. Diminution des plis cutanés significativement plus importante au cours de l'intervention chez les enfants du groupe placebo que chez les enfants du groupe intervention. Pas de différence entre les groupes en termes de WAZ, WHZ et HAZ. Diminution de 50% du retard de croissance en taille à l'issue du suivi longitudinal en décembre 2003 chez tous les enfants inclus dans l'intervention

*Weight-for-age Z-Score: Poids/âge (Z-Score), †Weight-for-height Z-Score: Poids/taille (Z-Score), ‡Height-for-age Z-Score: Taille/âge (Z-Score)

§ Mid upper-arm circumference-for-age Z-Score : Tour de bras (Z-Score), §§ ITN : Insecticide Treated Nets : moustiquaires imprégnées, ** SP: sulfadoxine-pyriméthamine

3.1.2.2 Impact de l'utilisation de moustiquaires imprégnées sur l'état nutritionnel

A partir des années 1990, la plupart des interventions dans la prévention du paludisme visent à évaluer l'efficacité des moustiquaires imprégnées (D'Alessandro *et al.*, 1995; Snow *et al.*, 1997; Friedman *et al.*, 2003; ter Kuile *et al.*, 2003; ter Kuile *et al.*, 2003). Il est important de noter que ces essais se différencient par plusieurs aspects méthodologiques. Premièrement, la transmission du paludisme de la zone d'étude diffère entre ces interventions : deux études se sont déroulées dans des zones de faible transmission saisonnière (D'Alessandro *et al.*, 1995; Snow *et al.*, 1997) alors que les quatre autres interventions ont été réalisées dans une zone de transmission intense et pérenne (Shiff *et al.*, 1996; Friedman *et al.*, 2003; ter Kuile *et al.*, 2003; ter Kuile *et al.*, 2003). Deuxièmement, une seule de ces études est basée sur un suivi longitudinal des enfants. Les autres études s'appuient sur des passages transversaux répétés (incluant de nouveaux enfants à chaque passage).

L'âge des sujets inclus varie également d'une étude à l'autre. Bien que la majorité de ces essais ait été menée chez des enfants d'âge préscolaire (moins de 5 ans) (Shiff *et al.*, 1996; Snow *et al.*, 1997; ter Kuile *et al.*, 2003; ter Kuile *et al.*, 2003), deux études ont inclus des enfants d'âge scolaire (D'Alessandro *et al.*, 1995; Friedman *et al.*, 2003).

Malgré ces différences méthodologiques, toutes ces interventions s'accordent à dire que la prévention du paludisme par la mise en place de moustiquaires imprégnées a un impact bénéfique sur le poids des enfants, aussi bien en considérant le gain de poids (Shiff *et al.*, 1996) que les indices WAZ (Z-Score de l'indice poids/âge) (D'Alessandro *et al.*, 1995; Snow *et al.*, 1997; ter Kuile *et al.*, 2003; ter Kuile *et al.*, 2003), WHZ (Z-Score de l'indice poids/taille) (D'Alessandro *et al.*, 1995), MAZ (Z-Score du tour de bras) (Snow *et al.*, 1997; ter Kuile *et al.*, 2003; ter Kuile *et al.*, 2003) ou encore le pourcentage de masse maigre (Friedman *et al.*, 2003).

Parmi ces interventions, seule l'étude menée par Ter Kuile *et al.* (ter Kuile *et al.*, 2003) montre un effet positif de la prévention palustre par moustiquaires imprégnées sur la croissance en taille des enfants, avec une différence significative de 0,36 de HAZ en faveur des enfants ayant bénéficié des moustiquaires ($p=0,01$).

3.1.2.3 Impact du traitement préventif intermittent saisonnier sur l'état nutritionnel

En 2002, un essai contrôlé randomisé a été conduit au Sénégal afin d'évaluer l'efficacité de l'administration d'un traitement préventif intermittent saisonnier chez des enfants de moins de cinq ans (TPIc) (Cisse *et al.*, 2006). Cette intervention s'est déroulée à Niakhar, une zone rurale du Sénégal où la transmission du paludisme est faible et saisonnière.

Cet essai consistait en l'administration, aux enfants inclus dans le groupe traité, d'une dose mensuelle d'une combinaison artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine pendant les trois mois du pic de transmission (septembre, octobre et novembre). Les enfants du

groupe contrôle recevaient de la même manière un placebo. Un suivi hebdomadaire des enfants permettait une détection active des cas palustres. La prise en charge passive des cas était assurée aux dispensaires. Tout cas avéré (symptôme d'une crise palustre accompagné d'une parasitémie supérieure à 3000 parasite par microlitre de sang) était immédiatement traité (sulfadoxine-pyriméthamine).

Lors de la saison de transmission suivant l'intervention en 2003, un suivi fut mis en place afin d'observer l'apparition d'un éventuel effet rebond (augmentation de la morbidité palustre par rapport aux enfants témoins) chez les enfants ayant reçu le traitement préventif intermittent la saison passée. Les enfants inclus initialement dans l'intervention en 2002 (traités et placebo) furent suivis de juillet 2003 à décembre 2003 de la même manière que lors de l'intervention. Cependant, lors de ce suivi tout cas de paludisme suspecté était immédiatement traité sans attendre la confirmation parasitologique.

Les mesures anthropométriques furent réalisées au moment des enquêtes transversales en septembre et novembre 2002, puis en juillet et novembre 2003.

Cette étude a mis en évidence, chez les enfants du groupe traité, un gain de poids, entre septembre et novembre 2002, significativement supérieur à celui des enfants du groupe contrôle ($122,9 \pm 340$ vs. $42,9 \pm 344$ g/mois, $P < 0,0001$) (Ntab *et al.*, 2007). Les enfants ayant reçu le traitement préventif intermittent présentaient également une moindre diminution des plis cutanés tricipitaux et sous-scapulaires ($-0,39 \pm 1,01$ vs. $-0,66 \pm 1,01$ mm/mois et $-0,15 \pm 0,64$ vs. $-0,36 \pm 0,62$ mm/mois, $p < 0,0001$ pour les deux). De plus, alors que la prévalence de maigreur resta stable dans le groupe traité, celle-ci augmenta significativement dans le groupe contrôle.

Aucune différence de la croissance en taille ne fut mise en évidence entre les deux groupes à la fin de l'intervention en novembre 2002.

En juillet 2003, lors de l'inclusion des enfants dans le suivi de l'effet rebond, l'enquête anthropométrique a révélé que la différence d'état nutritionnel observée entre les deux groupes d'enfants au mois de novembre 2002 n'était plus observée au mois de juillet. Les deux groupes d'enfants étaient donc comparables en termes de taille, de poids de plis cutanés et de tour de bras au début de la saison des pluies suivante. Ce résultat suggère que l'effet du TPIc sur l'état nutritionnel des enfants a été transitoire.

Cependant, à la fin de l'intervention, en décembre 2003, une diminution d'environ 50% de la prévalence du retard de croissance en taille a été observée chez tous les enfants inclus (traités et contrôles).

Ce rattrapage de croissance, observé dans les deux groupes d'intervention, ne semble pas lié au traitement préventif intermittent administré.

Aucune étude de prévention contre le paludisme n'a, jusqu'à lors, montré une telle diminution de la prévalence du retard de croissance en taille.

En 2005, un suivi nutritionnel intégré dans un programme national d'éradication du paludisme au Vietnam, mit également en évidence un rattrapage de croissance chez les enfants et adolescents de moins de 23 ans (Hung *et al.*, 2005).

Bien que le design de l'étude ne permette pas de conclure quant à l'effet direct de la prévention palustre sur ce rattrapage de croissance, les auteurs suggèrent que la mise en place du programme d'éradication du paludisme, ayant par ailleurs induit une forte diminution de la morbidité et la mortalité palustres, semble être la cause la plus probable pouvant expliquer le rattrapage de croissance observé dans cette population.

L'ensemble de ces études révèle que la morbidité palustre apparaît comme un facteur contribuant au développement et à l'aggravation de la malnutrition des enfants. L'effet du paludisme semble plus important chez les enfants âgés de moins de trois ans. Il s'avère également que la morbidité palustre affecte principalement le poids des enfants et bien que la prévention du paludisme permette d'améliorer la croissance pondérale des enfants, ce bénéfice paraît être transitoire.

3.2 Impact de la malnutrition sur la morbidité palustre

L'influence de la malnutrition sur la prédisposition au paludisme est un sujet controversé depuis le début des années 1950. Ces deux affections sont des causes majeures de morbidité et de mortalité chez les enfants des pays en voie de développement. Bien que le rôle de la malnutrition dans la diminution de la résistance aux infections soit aujourd'hui largement reconnu, l'effet de la malnutrition sur la prédisposition palustre a été relativement peu étudié.

Alors que certaines études suggèrent que la malnutrition diminue le risque de morbidité palustre chez les enfants, d'autres montrent que les enfants malnutris sont plus à risque de souffrir de paludisme. Certaines études, quant à elles, ne mettent pas en évidence d'association entre malnutrition et prédisposition au paludisme.

3.2.1 Malnutrition et diminution du risque d'infection palustre

Parmi les premières études évaluant l'impact de la malnutrition sur la morbidité palustre, la majorité était en faveur d'une protection des enfants malnutris contre le paludisme.

En 1954, un rapport d'autopsies indiquait que quatre enfants Ghanéens morts de neuropaludisme présentaient un bon état nutritionnel (Edington, 1954). Dans les années 1960, d'autres témoignages rapportèrent que le paludisme était rare chez les enfants malnutris en Afrique du Sud, et que les enfants qui mourraient de neuropaludisme au Nigéria avaient souvent un bon état nutritionnel (Walt, 1959; Edington, 1967). En 1967 et 1974, des études cas-témoins conduites au Nigéria conclurent que les enfants atteints de paludisme avaient moins de probabilité d'être malnutris et que le kwashiorkor semblait protéger les enfants du paludisme (Hendrickse *et al.*, 1971). En 1975, un

nouveau rapport d'autopsies indiqua que parmi 25 décès d'enfants malnutris, deux seulement étaient imputables au paludisme (Purtilo *et al.*, 1975).

Plus récemment, en 1991, une étude conduite en Inde parmi 60 patients hospitalisés montra que la parasitémie tendait à augmenter avec l'amélioration du statut nutritionnel des patients (Goyal, 1991). Toutefois aucune donnée n'a été présentée concernant l'incidence clinique des cas palustres.

En 2008, une étude rétrospective a été réalisée sur 5695 enfants de moins de cinq ans hospitalisés entre novembre 1992 et février 2004 dans la région du Kivu en République Démocratique du Congo (Mitangala Ndeba *et al.*, 2008). Les hospitalisations pour des crises de paludisme concernaient 35,8% des cas. Les résultats de cette analyse indiquent que les enfants souffrant d'insuffisance pondérale et ceux souffrant d'émaciation au moment de l'admission à l'hôpital avaient moins de risque de développer de crise palustre que les enfants présentant un meilleur état nutritionnel.

Un possible effet protecteur de la malnutrition contre le paludisme a également été suggéré par des études menées en période de famine dans le cadre d'aide alimentaire d'urgence. Ainsi en 1945, le rapport de la commission de la famine au Bengale indiqua que la renutrition semblait provoquer des accès palustres chez les sujets présentant une infection latente.

De même, durant la période de famine sahélienne au Niger, qui sévit dans les années 1970, de nombreux patients hospitalisés dans le cadre d'une renutrition ont développé des accès palustres quelque jours après leur admission évoluant souvent vers un accès de neuropaludisme (Murray *et al.*, 1976). Comme la transmission du paludisme était inexistante au sein de l'hôpital, les auteurs suggérèrent que la renutrition apportait des nutriments essentiels aux parasites séquestrés qui leur permettaient alors de se développer et de donner lieu à des infections recrudescentes.

Toutefois les études conduites en période de famine représentent des cas particuliers dans l'étude de l'influence de la malnutrition sur la morbidité palustre. En effet, au cours de programmes d'aide alimentaire d'urgence, il est fréquemment observé chez les sujets sévèrement dénutris que la reprise d'un apport nutritionnel réactive les infections latentes (Murray *et al.*, 1995). Ce phénomène observé chez les individus souffrant de malnutrition extrême semble lié à un retard de la réponse du système immunitaire couplé à la rapide recrudescence des parasites latents (Caulfield *et al.*, 2004). Par conséquent, les effets biologiques induits lors de la renutrition d'enfants dans des zones de famine seraient différents de ceux induits par la supplémentation des enfants moins sévèrement malnutris. Les résultats des études en zone de famine semblent ne pas être extrapolables aux situations rencontrées plus communément dans les pays en développement.

D'autres études épidémiologiques visant à étudier l'impact de la malnutrition sur la morbidité palustre ont été menées au cours de ces vingt dernières années. Grâce à

l'évolution des outils épidémiologiques et anthropométriques, ces études présentent moins de biais méthodologiques.

En 1991, une étude d'observation longitudinale fut menée en Gambie chez 138 enfants âgés de un à quatre ans afin d'observer l'impact de la malnutrition en début de saison des pluies sur l'incidence des crises palustres pendant l'hivernage (Snow *et al.*, 1991). Les résultats de cette analyse suggèrent que les enfants n'ayant pas souffert d'accès palustre pendant la saison des pluies sont ceux qui présentaient un plus faible indice poids pour taille en début d'hivernage (WHZ=-1,18, intervalle de confiance 95% (IC95%) [-1,47 ; -0,86] vs. WHZ=-1,03 ; IC95% [-1,40 ; -0,66]). Les résultats indiquent également une tendance à un indice poids pour âge plus élevé chez les enfants ayant développé des crises palustres associées à une forte parasitémie (WAZ=-1,28 ; IC95% [-1,84 ; -0,72] vs. WAZ=-1,67 ; IC95% [-2,39 ; -0,95]). Toutefois ces résultats ne sont pas significatifs.

Une autre étude prospective conduite en Gambie en 1999 parmi des enfants de moins de cinq ans, montra également une tendance en faveur d'un risque de crise palustre moindre chez les enfants émaciés (WHZ<-2) (risque relatif [RR]=0,87 ; IC 95% [0,69 – 1,10]) (Deen *et al.*, 2002).

L'ensemble de ces études suggère une association entre les indices nutritionnels reflétant l'émaciation ou l'insuffisance pondérale et la prédisposition palustre.

Jusqu'à présent une seule étude longitudinale, conduite en Papouasie Nouvelle Guinée dans une zone présentant une transmission pérenne et intense du paludisme, a montré un impact du statut en taille sur la morbidité palustre (Genton *et al.*, 1998). En effet, lors de ce suivi longitudinal, le risque de crise palustre chez les enfants âgés de 10 mois à 10 ans augmentait de 19% quand l'indice HAZ des enfants augmentait d'une unité. Les auteurs ont alors suggéré que le retard de croissance en taille (HAZ<-2) pourrait protéger les enfants contre le paludisme.

Un certain nombre d'études réalisées sur des animaux supportent également l'hypothèse d'un effet protecteur de la malnutrition contre le paludisme (Shankar, 2000). Cependant, bien que les animaux privés de protéines semblent moins susceptibles au paludisme, les résultats de ces études montrent également que ces animaux présentent une plus faible réponse anticorps contre le parasite et qu'ils ont, par ailleurs, plus de difficulté à éliminer l'infection (Caulfield *et al.*, 2004).

i. Le cas particulier de la déficience en fer

La déficience en fer et l'anémie ferriprive sont estimées comme étant les carences nutritionnelles les plus répandues dans le monde. L'anémie toucherait environ 1,6 milliard de personnes, ce qui représente près de 25% de la population mondiale (McLean *et al.*, 2009). Par conséquent, le fer est probablement le micronutriment le plus administré dans le monde, aussi bien lors de programmes préventifs impliquant des

administrations en masse ou au travers de prescriptions individuelles (Prentice, 2008). Une alimentation appauvrie en fer est la principale cause de la carence martiale, cependant, chez les populations vivant en zone d'endémie le paludisme semble être un important facteur de risque dans l'apparition ou l'aggravation de l'anémie. En effet, l'anémie sévère est une des complications fréquemment observée dans l'évolution du paludisme grave en particulier chez les femmes enceintes et les enfants de moins de deux ans. *Plasmodium falciparum* est un hématozoaire envahissant et détruisant les hématies. La destruction des globules rouges, accompagnée d'une érythrophagocytose d'hématies non-infectées et d'un dysfonctionnement de la moelle osseuse seraient les mécanismes essentiellement impliqués dans l'évolution de la carence martiale (Ekvall, 2003). Toutefois, la pathogénèse de l'anémie dans le cas de l'infection palustre est complexe et l'ensemble des mécanismes mis en jeu n'est pas connu avec certitude.

Les résultats des quelques études observationnelles concernant l'impact de la déficience en fer ou de l'anémie sur la prédisposition au paludisme sont contradictoires. Deux études révèlent que les sujets présentant un fort taux de ferritine sérique ont un risque accru de souffrir de crises palustres (Snow *et al.*, 1991; Nyakeriga *et al.*, 2004), alors que deux autres études montrent soit une augmentation (Oppenheimer *et al.*, 1986), soit une diminution significatives (Shipton, 2004) de la prédisposition palustre chez les individus ayant un taux élevé d'hémoglobine.

Les interventions de supplémentation en fer des populations vivant en zone d'endémie palustres ont également montré des résultats divergents.

En effet, une récente méta-analyse, incluant les résultats de quinze interventions, conclut que six d'entre elles ne montraient aucune association entre la supplémentation en fer et la prédisposition aux crises palustres. Six essais, quant à eux, indiquaient, de façon non-significative, que le risque de crise palustre semblait plus élevé chez les individus ayant reçu le complément en fer. Les trois dernières interventions concluaient, de manière significative, que les enfants supplémentés en fer souffraient plus de crises palustres que les enfants non-supplémentés (Prentice *et al.*, 2007).

L'une des raisons qui pourrait expliquer cette divergence entre les études est l'accès aux soins et la prise en charge des crises palustres. En effet, parmi les six interventions qui ne trouvèrent pas d'association entre supplémentation en fer et prédisposition palustre, cinq fournissaient un accès aux centres de soins ou une détection active suivi du traitement des crises palustres. Ce qui implique que le potentiel effet délétère de la supplémentation en fer pourrait être diminué par l'efficacité des traitements des crises palustres (Prentice, 2008).

Cependant, d'autres études suggérèrent que le traitement d'un paludisme pré-existant (présence du parasite dans le sang) par une combinaison de sulfadoxine-pyriméthamine et de fer pouvait conduire à un échec thérapeutique, indiquant alors que le traitement des crises palustres devrait précéder la supplémentation en fer (Nwanyanwu *et al.*, 1996; Verhoef *et al.*, 2002).

De plus, il a également été évoqué que l'effet délétère de la supplémentation en fer semblerait limité aux enfants présentant une surcharge en fer, suggérant l'excès de fer responsable de l'augmentation de la prédisposition au paludisme (Stoltzfus, 2008). Cela semble alors contre-indiquer le caractère systématique de la supplémentation en fer.

L'ensemble de ces résultats viennent supporter l'hypothèse qu'une déficience en fer permettrait de protéger l'individu.

Le fer joue un rôle clef dans l'interaction hôte-pathogène (Prentice, 2008). Chez l'homme, le fer est un élément indispensable au fonctionnement de l'organisme : on le retrouve dans de nombreuses hémoprotéines, telles l'hémoglobine des globules rouges, assurant le transport du dioxygène, ou les cytochromes de la chaîne respiratoire des mitochondries, ainsi que dans certaines flavoprotéines. Mais le fer s'avère également indispensable au développement et à la réplication du parasite.

Dans le cas d'une infection chez l'hôte, l'hépcidine impliquée dans la réponse de la phase aiguë inhibe l'absorption gastrique du fer ainsi que sa libération par les macrophages, permettant ainsi une moindre disponibilité du fer pour le métabolisme de *P. falciparum*.

Trois principaux mécanismes ont été suggérés pour expliquer l'influence de la déficience en fer sur la prédisposition palustre (Prentice, 2008).

La première hypothèse est que la modification de la disponibilité du fer inhiberait la croissance et la réplication du parasite.

Une deuxième théorie implique le rôle de la protoporphyrine-zinc (PPZ). La PPZ est un métabolite que l'on trouve à l'état de trace lors de la synthèse de l'hème. La dernière étape de la synthèse de l'hème, nécessite la fixation du fer par la protoporphyrine (PP). Dans le cas d'une déficience en fer, la PP fixe alors le zinc pour former la PPZ (Labbe *et al.*, 1999). L'accumulation de la PPZ dans l'érythrocyte inhiberait la formation de l'hémozoïne et engendrerait un environnement toxique pour le parasite s'apparentant à l'action des molécules antipaludiques.

La dernière hypothèse s'appuie sur l'influence du fer dans la régulation de l'immunité de l'hôte.

Le fer se trouve donc au centre de la compétition hôte/pathogène pour l'utilisation des nutriments. Un certain nombre d'arguments étayent la théorie selon laquelle l'effet négatif de la supplémentation en fer sur la morbidité palustre serait lié à l'excès de fer et non à la supplémentation en tant que telle.

Complémenter les enfants en fer reste toutefois un enjeu sanitaire très important et les études épidémiologiques conduites dans les zones d'endémie palustre soulignent l'importance de la prise en charge du paludisme associée à la supplémentation en fer des enfants déficients (anémie, déficit cognitif).

3.2.2 Malnutrition et augmentation du risque d'infection

palustre

L'impact de la malnutrition sur l'augmentation du risque de morbidité ou de mortalité infectieuse est largement reconnu. L'insuffisance pondérale est par ailleurs identifiée comme étant la cause sous-jacente de la moitié des décès chez les enfants de moins de cinq ans (Caulfield *et al.*, 2004). Bien que l'augmentation du risque de mortalité chez les enfants souffrant d'insuffisance pondérale soit clairement mise en évidence dans le cas des diarrhées et des infections respiratoires, quelques études seulement ont montré une association significative entre malnutrition et augmentation de la morbidité et/ou de la mortalité palustres.

Dans les années 1990, cinq études furent menées en milieu hospitalier, au Nigéria, à Madagascar, au Tchad, en Gambie et au Sénégal, basées sur les admissions d'enfants de moins de cinq ans présentant un accès palustre sévère. Toutes montrèrent une augmentation significative (entre 1,3 et 3,5) du risque de mortalité ou de séquelles neurologiques chez les enfants malnutris (Shankar, 2000).

Plus récemment, une étude rétrospective, réalisée dans un hôpital rural du Mozambique, analysa les facteurs de risque à l'admission associés à la mortalité palustre chez des enfants de moins de quinze ans (Bassat *et al.*, 2008). Cette analyse, incluant 8 311 patients admis entre juin 2003 et mai 2005, confirma l'effet de l'insuffisance pondérale sur la morbidité palustre observé dans les précédentes études. En effet, les résultats de cette étude montrèrent une diminution de 44% du risque de mortalité liée au paludisme par incrémentation d'une unité de l'indice WAZ.

Le risque accru de morbidité ou de mortalité palustre associée à la malnutrition des enfants fut également mis en évidence au cours de ces dix dernières années par des études épidémiologiques en population.

En 1999, une étude longitudinale prospective fut menée en Gambie au sein de 18 villages dans une zone de transmission saisonnière du paludisme (Deen *et al.*, 2002). Dans le but d'étudier la relation entre la malnutrition et le paludisme, 487 enfants de moins de cinq ans ont été inclus dans cette étude et suivis pendant la durée de la saison des pluies. Deux enquêtes anthropométriques ont été réalisées au début et à la fin de la saison des pluies. La morbidité palustre fut prise en charge grâce à un suivi hebdomadaire au domicile des enfants. Lorsqu'un enfant présentait des symptômes de paludisme, l'équipe médicale effectuait une goutte épaisse dont le résultat était disponible sous 24 heures. Un accès palustre était confirmé si l'enfant présentait une parasitémie supérieure à 5000 parasites par microlitre de sang. Les résultats de cette étude montrèrent que le risque de développer un accès palustre au cours de la saison

des pluies était augmenté de 35% chez les enfants présentant un retard de croissance en taille en début de saison des pluies.

Une autre étude ayant pour but de mettre en évidence une association entre malnutrition et prédisposition au paludisme a été conduite au Kenya dans une zone de transmission intense et pérenne du paludisme (Friedman *et al.*, 2005). Cette étude rassembla les données de trois enquêtes transversales nichées au sein d'une cohorte mise en place pour évaluer l'efficacité des moustiquaires imprégnées (Phillips-Howard *et al.*, 2003). Au final, 1862 enfants âgés de 0 à 35 mois furent inclus dans l'analyse. L'état nutritionnel et la morbidité palustre ont été estimés grâce aux données collectées lors des enquêtes transversales. L'indice HAZ (taille-âge) s'est révélé significativement associé à la densité parasitaire alors que l'indice WHZ (poids-taille) fut plutôt associé à la prévalence d'anémie palustre sévère. Les analyses multivariées réalisées dans cette étude ont montré que les enfants souffrant de retard de croissance en taille avaient environ deux fois plus de risque d'être porteurs de parasites et de présenter une densité parasitaire élevée. La prévalence des accès palustres chez ces enfants semblait également supérieure à celle observée chez les enfants ayant un indice HAZ ≥ -2 (OR=1,77 ; $p=0,06$).

Cependant, la méthodologie de cette étude basée sur des enquêtes transversales limite l'interprétation des résultats en termes de causalité car il est possible que le mauvais état nutritionnel de ces enfants ne soit pas la cause de la morbidité palustre observée mais plutôt sa conséquence.

Au début des années 2000, l'Organisation Mondiale de la Santé mit en place la deuxième étude GBD (Global Burden Diseases) visant à évaluer l'importance comparative des facteurs de risque impliqués dans la charge de morbidité mondiale et de leurs effets dans différents groupes démographiques. Ce projet évalua l'impact de 26 facteurs de risque sur la santé des populations à travers le monde, à partir de données résultant d'études d'intervention et de programmes nationaux de surveillance de santé (<http://www.dcp2.org/pubs/GBD>).

La malnutrition fut étudiée comme l'un de ces 26 facteurs de risque (Fishman *et al.*, 2004). Le rapport de l'OMS conclut que la malnutrition modérée (WAZ < -1) était la cause sous-jacente de la moitié des décès des enfants âgés de 0 à 4 ans vivant dans les pays en développement (Fishman *et al.*, 2004). De plus, une analyse complémentaire, centrée sur la morbidité et la mortalité palustre indiqua que les enfants souffrant d'insuffisance pondérale sévère à modérée semblaient plus à risque de souffrir de crises palustres que les enfants bien portants (Caulfield *et al.*, 2004).

Cette tendance à l'augmentation du risque de morbidité palustre liée à l'insuffisance pondérale a été confirmée lors d'une étude menée au Ghana en 2002, dans une zone de transmission pérenne du paludisme, présentant des variations saisonnières d'intensité

(Ehrhardt *et al.*, 2006). Deux enquêtes transversales ont été réalisées, l'une en saison sèche et l'autre en saison des pluies, incluant un échantillon randomisé et représentatif de la population des enfants âgés de 6 mois à 9 ans. Les résultats de cette étude ont révélé que le risque de développer une crise palustre était augmenté de 67% chez les enfants souffrant d'insuffisance pondérale.

La majorité de ces études s'accorde à démontrer l'exacerbation de la morbidité palustre chez les enfants souffrant d'insuffisance pondérale. Il semble également que le retard de croissance staturale joue un rôle dans l'augmentation du risque de crises palustres chez les enfants de moins de cinq ans.

3.2.3 Absence d'association entre malnutrition et paludisme

Pourtant, au cours de ces vingt dernières années, quelques études conclurent à une absence d'association entre malnutrition et morbidité palustre.

A la fin des années 1980, une étude longitudinale a été menée en Gambie dans une zone de transmission saisonnière du paludisme incluant 138 enfants âgés de 1 à 4 ans (Snow *et al.*, 1991). La morbidité palustre fut prise en charge grâce à un suivi hebdomadaire au domicile des enfants. Les résultats de cette étude suggèrent que les enfants dont l'indice WAZ (poids/âge) était le plus élevé au début du suivi développent plus de crises palustres, accompagnées d'une forte densité parasitaire pendant la saison des pluies. Cependant, devant l'absence de résultats significatifs les auteurs ont conclu que la malnutrition n'était pas un facteur déterminant dans la prédisposition des enfants au paludisme.

Une étude transversale conduite en République Démocratique du Congo dans les années 1990 inclut 558 enfants de moins de 10 ans vivant en zone urbaine dans une région où le paludisme sévit de manière épidémique (Tshikuka *et al.*, 1997). Bien que les résultats aient montré un risque accru d'infections parasitaires causées par *Ascaris lumbricoides* et/ou *Trichuris trichiura* chez les enfants malnutris, aucune association entre malnutrition et infection à *Plasmodium falciparum* n'a été mise en évidence.

En 1999, 709 enfants burkinabè âgés de 6 à 30 mois furent inclus dans une étude longitudinale visant à estimer l'association entre malnutrition et morbidité palustre dans une zone holoendémique soumise à une transmission saisonnière (Muller *et al.*, 2003). Les enfants inclus ont été suivis quotidiennement durant la période la saison de transmission (de juin à décembre). Les mesures anthropométriques furent collectées au cours de trois enquêtes transversales réalisées à l'inclusion, trois mois après l'inclusion et à la fin du suivi. A l'issue du suivi, aucune différence de prévalence de crises palustres ne fut détectée entre les enfants malnutris et ceux bien portants. Cependant, les résultats

indiquèrent que les enfants souffrant de malnutrition avaient deux fois plus risque de décès que les enfants bien portants.

3.2.4 Comment conclure ? Importance des discordances et biais méthodologiques

La synthèse des différentes études entreprises afin d'estimer l'association entre malnutrition et prédisposition au paludisme ne permet pas de conclure de façon unanime quant au sens et à la force de l'association. A l'origine des discordances rapportées entre les résultats se trouvent d'importantes différences méthodologiques.

La malnutrition et le paludisme ont tous deux des aspects multifactoriels. La cause directe d'une crise palustre est la présence de *Plasmodium* dans l'organisme de l'hôte, mais l'infection d'un hôte par le parasite et l'évolution de la maladie dépend d'un certain nombre de facteurs (la capacité vectorielle, la transmission, l'immunité et l'âge de l'hôte, l'environnement, l'accès aux soins etc...). Il en est de même pour la malnutrition. Bien que la cause apparente principale soit le faible apport alimentaire, plusieurs autres paramètres jouent également un rôle dans l'apparition et l'évolution de la malnutrition (les infections, le sevrage, les carences, les tabous alimentaires, les croyances, l'environnement, etc...).

Devant cette multitude de facteurs impliqués dans l'incidence de ces deux affections, il paraît alors inévitable que les études épidémiologiques portant sur l'interaction malnutrition/paludisme diffèrent entre elles par plusieurs aspects : la transmission et l'endémicité du paludisme (saisonnaire/pérenne/faible/intense), les espèces plasmodiales (co-infections), le diagnostic du paludisme (symptômes/parasitémie), le traitement (présomptif/curatif), le diagnostic de la malnutrition (clinique, anthropométrique, biochimique), la supplémentation en micronutriments, l'âge des sujets...

L'une des différences méthodologiques les plus conséquentes concerne la conception même des études. En effet, afin de conclure quant à l'impact de la malnutrition sur la prédisposition des enfants au paludisme, il apparaît indispensable que les études soient basées sur un suivi longitudinal de la morbidité palustre (Snow *et al.*, 1991; Genton *et al.*, 1998; Deen *et al.*, 2002; Muller *et al.*, 2003). Dans la plupart des enquêtes transversales il est impossible d'établir un lien de causalité entre les deux facteurs étudiés (Tshikuka *et al.*, 1997; Friedman *et al.*, 2005; Ehrhardt *et al.*, 2006).

Les études les plus anciennes menées en milieu hospitalier présentent également des faiblesses qui viennent discréditer les résultats observés et les conclusions qui en découlent. En effet, ces études sont basées soit sur des rapports d'autopsies, soit sur des admissions dans les hôpitaux, ce qui entraîne certainement un biais de sélection. De plus, dans les analyses, la comparaison est faite entre les enfants malnutris souffrant du paludisme et les enfants malnutris souffrant d'autres affections. Par conséquent, cette

méthode ne permet pas de conclure que la malnutrition protège du paludisme mais plutôt que le paludisme semble moins exacerbé chez les enfants malnutris.

Par ailleurs, la prévalence de la malnutrition parmi les enfants atteints de paludisme est particulièrement élevée dans ces études hospitalières, ce qui pourrait suggérer un effet de la malnutrition sévère sur le risque de mortalité palustre. Il est également important de constater que lors de ces premières études, le diagnostic de malnutrition n'était pas réalisé à partir de méthodes de mesures standardisées mais plutôt basé sur des critères qualitatifs (mince, très mince, pâle...).

A cela s'ajoute un manque de données socio-économiques qui peuvent également biaiser les résultats observés.

Bien que les études longitudinales semblent les plus appropriées dans l'étude de la relation malnutrition/paludisme, leurs résultats n'en sont pas moins contradictoires (Snow *et al.*, 1991; Genton *et al.*, 1998; Deen *et al.*, 2002; Muller *et al.*, 2006). Ce désaccord observé entre les études longitudinales peut également s'expliquer par des différences méthodologiques au sein même de ces études. Nous retiendrons en particulier les divergences concernant le suivi de la morbidité palustre (passages hebdomadaires ou quotidiens ou seulement lors de passages transversaux), le diagnostic et la prise en charge des cas avérés, ainsi que le type de transmission et l'âge des sujets (tableau 5).

Tableau 5: Différences méthodologiques et résultat principal des études épidémiologiques concernant l'estimation de l'effet de la malnutrition sur la prédisposition au paludisme

Référence	Design	Transmission Endémicité	Prise en charge de la morbidité palustre et définition des cas	Age des enfants	Indices nutritionnels	Résultat principal
Snow <i>et al.</i> (1991)	Suivi longitudinal sur une saison de transmission	Saisonnière Hypoendémique	Détection active des cas par passages hebdomadaires à domicile CP** = fièvre + parasitémie positive Forte densité parasitaire : parasitémie ≥ 5000/μL	1 – 4 ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Pas d'association
Genton <i>et al.</i> (1998)	Suivi longitudinal sur une année	Pérenne Holoendémique	Détection active des cas par passages hebdomadaires à domicile + Détection passive aux dispensaires CP** = fièvre ou histoire de fièvre dans les dernières 72h + parasitémie 6 définitions des accès palustres ont été établies selon la parasitémie (> 0/μL, > 5000/μL et >10 000/μL) et l'espèce plasmodiale (<i>falciparum</i> , <i>vivax</i> ou <i>malariae</i>) Pas d'information sur le traitement curatif des cas confirmés	10 mois à 10 ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Diminution du risque de crises palustres chez les enfants ayant de faibles indices taille/âge (HAZ)
Deen <i>et al.</i> (2002)	Suivi longitudinal sur une saison de transmission	Saisonnière Holoendémique	Détection active des cas par passages hebdomadaires à domicile CP** = fièvre ou histoire de fièvre dans les dernières 24h + parasitémie > 5000/μL Traitement curatif des cas confirmés	0 – 5 ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Augmentation du risque de crises palustres chez les enfants retardés en taille (HAZ < -2)

*Weight-for-age Z-Score: Poids/âge (Z-Score),

† Weight-for-height Z-Score: Poids/taille (Z-Score)

‡ Height-for-age Z-Score: Taille/âge (Z-Score),

CP** : définition d'une Crise Palustre

Tableau 5 (suite)

Référence	Design	Transmission Endémicité	Prise en charge de la morbidité palustre et définition des cas	Age des enfants	Indices nutritionnels	Résultat principal
Müller <i>et al.</i> (2003)	Suivi longitudinal sur une saison de transmission	Saisonnière Holoendémique	Détection active des cas par passages quotidiens à domicile CP** = fièvre + parasitémie $\geq 1/\mu\text{L}$, 5000/ μL ou 100 000/ μL Traitement curatif approprié aux dispensaires	6 – 30 mois	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Pas d'association
Tshikuka <i>et al.</i> (1997)	Transversal	Saisonnière Epidémique	Détection de la morbidité palustre au moment des enquêtes transversales Traitement curatif par chloroquine de tous les enfants ayant une parasitémie positive	4 mois à 10 ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Pas d'association
Friedman <i>et al.</i> (2005)	Transversal	Pérenne Holoendémique	Rappel de morbidité palustre au cours des deux semaines précédant les enquêtes transversale + dépistage des cas au moment des enquêtes CP** = fièvre + forte densité parasitaire définie selon un seuil âge dépendant.	0 – 3 ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Augmentation du risque de crises palustres chez les enfants retardés en taille (HAZ<-2)
Ehrhardt <i>et al.</i> (2006)	Transversal	Pérenne + variations saisonnnières de l'intensité de transmission Hyperendémique	Détection de la morbidité palustre au moment des enquêtes transversales CP** = fièvre + parasitémie positive	6 mois à 9 ans	WAZ* WHZ† HAZ‡ (référence NCHS)	Augmentation du risque de crises palustres chez les enfants en insuffisance pondérale (WAZ<-2)

*Weight-for-age Z-Score: Poids/âge (Z-Score)

†Weight-for-height Z-Score: Poids/taille (Z-Score)

‡Height-for-age Z-Score: Taille/âge (Z-Score)

CP** : définition d'une Crise Palustre

L'âge des enfants inclus dans ces études, s'il n'est pas pris en compte dans les analyses, peut être un facteur de confusion dans la relation entre paludisme et malnutrition. En effet, l'âge est un facteur associé à la fois à la morbidité palustre et à la malnutrition. En général, les enfants les plus jeunes (12-24 mois) semblent plus enclins à l'émaciation (faible poids/taille) alors que le retard de croissance en taille, bien qu'apparaissant dès le troisième mois, s'intensifie jusqu'à 18 mois pour se stabiliser autour de 36 mois (OMS, 1995). L'effet de l'âge est également observé dans l'incidence et l'évolution de la morbidité palustre. Cependant, selon la stabilité de transmission, saisonnière ou pérenne, et l'endémicité, la sensibilité des enfants aux crises palustres peut être différente en fonction de l'âge. Dans les zones de transmission élevée et pérenne, la morbidité et la mortalité seraient concentrées chez les enfants les plus jeunes, alors que dans les zones où la transmission est saisonnière et moins intense, la morbidité et la mortalité toucherait les enfants jeunes et plus âgés et parfois les adultes (Rogier, 2003). En zone de transmission stable, les accès palustres graves sont plus fréquents chez les enfants de moins de trois ans et évoluent souvent en anémie sévère. Chez les enfants plus âgés (au-delà de trois ans), les accès palustres graves sont moins fréquents et évoluent plutôt vers des accès de neuropaludisme (Shankar, 2000). Ces variations de sensibilité au paludisme en fonction de l'âge sont liées à l'acquisition de l'immunité âge-dépendante (développée dans la section 3.3.1.2).

Afin de contrôler l'effet de confusion de l'âge, il s'avère indispensable de prendre en compte cet effet et d'ajuster les analyses sur l'âge.

Le deuxième facteur à prendre en compte dans les analyses est l'hétérogénéité de l'exposition des enfants au paludisme, donc aux piqûres infectantes. En effet, l'exposition varie de façon très importante en fonction de la situation géographique, de la proximité des gîtes larvaires, de l'hygiène et des mesures sanitaires mises en œuvre. Par conséquent, l'exposition des individus au paludisme varie d'un village à l'autre, mais il semble fortement probable qu'elle varie de même d'une concession à une autre voire d'une maison à une autre. Il est cependant très difficile (si ce n'est impossible) de connaître le taux d'exposition au parasite à un niveau individuel. Afin de pouvoir prendre en compte de cette hétérogénéité d'exposition, il faut avoir recours à des modèles statistiques intégrant des effets aléatoires.

Lors de l'analyse de ces études épidémiologiques, il est également important de tenir compte du traitement antipaludéen que reçoivent les enfants car, en fonction de la durée d'action thérapeutique des molécules administrées, les individus traités bénéficient pendant une certaine période d'une forme de chimioprophylaxie qui doit théoriquement prévenir toute nouvelle infection. Dans le cas d'études considérant, non pas l'incidence, mais le nombre de crises palustres durant le suivi, il est indispensable de définir une durée pour laquelle un individu traité n'est plus considéré à risque d'être infecté. Cela nécessite d'autre part de pouvoir distinguer une nouvelle infection (par une nouvelle souche de *Plasmodium*) d'un échec thérapeutique.

De plus, ce traitement curatif doit nécessairement être différencié d'un traitement présomptif, et ce même dans le cas d'analyse qui ne considère que l'incidence d'une crise palustre. En effet, si la première suspicion de paludisme donne lieu à un traitement alors qu'il ne s'agit pas d'une crise palustre, l'individu ayant reçu ce traitement dit « présomptif » est alors moins à risque d'être infecté pendant la durée d'action thérapeutique du traitement.

Il est également possible que dans les zones d'études, les individus se protègent du paludisme par d'autres moyens que ceux mis en œuvre par les interventions, comme la pulvérisation d'insecticides, l'utilisation de moustiquaires imprégnées ou de spirales insecticides... Ces moyens de prévention pourraient alors diminuer le risque d'infection palustre chez les sujets et engendrer un biais supplémentaire dans l'évaluation de l'interaction paludisme/malnutrition.

Enfin, l'une des différences majeures à l'origine des discordances entre les études concerne les particularités de la transmission du paludisme dans les zones considérées.

En effet, l'endémicité et la durée de la transmission sont les deux facteurs principaux qui conditionnent la morbidité palustre. Il est donc difficile de comparer entre eux des résultats d'études qui se déroulent dans des zones présentant des faciès épidémiologiques du paludisme complètement différents. En effet, selon que la transmission est saisonnière ou pérenne, intense ou faible, les déterminants impliqués dans le développement d'une crise palustre (exposition individuelle au parasite, âge, immunité acquise, seuil parasitaire de pathogénicité...) seront différents.

Ainsi, il est par exemple important de considérer le seuil pyrogène de la parasitémie (ou seuil parasitaire de pathogénicité) au-delà duquel les symptômes cliniques sont attribués à une crise palustre. Ce seuil varie considérablement en fonction de la transmission du paludisme (Rogier *et al.*, 2005). L'attribution de manifestations cliniques au paludisme est problématique dans les populations exposées régulièrement à la transmission de *P. falciparum*. Chez les populations vivant dans les zones où la transmission est intense et pérenne, la prévalence parasitaire est parfois supérieure à 90 % de la population, et la détection d'une infection plasmodiale ne suffit alors pas pour attribuer des manifestations cliniques au paludisme. Il est donc nécessaire de fixer un seuil de parasitémie permettant de discriminer une crise palustre d'une autre maladie.

Certaines études épidémiologiques considèrent plusieurs seuils pathologiques de parasitémie dans leurs analyses (Genton *et al.*, 1998; Muller *et al.*, 2003; Friedman *et al.*, 2005). Il devient donc difficile de confronter les résultats sachant qu'ils sont fortement dépendants du seuil fixé.

Très peu d'études ont porté leur attention sur l'association entre charge parasitaire et malnutrition (Snow *et al.*, 1991; Muller *et al.*, 2003 ; Friedman *et al.*, 2005).

La parasitémie est un facteur qui varie très rapidement (Delley *et al.*, 2000). Pour pouvoir l'intégrer de façon rigoureuse dans des analyses, il serait nécessaire de réaliser des mesures répétées de la parasitémie sur de courts intervalles de temps.

Les résultats concernant l'association parasitémie/malnutrition sont également discordants. Alors qu'une étude indique que les enfants retardés en taille ont un risque plus important de présenter une densité parasitaire élevée (Friedman *et al.*, 2005), deux autres études ne mettent en évidence aucune association significative entre malnutrition et densité parasitaire (Snow *et al.*, 1991; Muller *et al.*, 2003). Cependant, l'une d'elle montre que les enfants dont des indices nutritionnels sont les plus faibles au début de la saison des pluies ont tendance à développer une crise palustre avec une plus faible parasitémie (<5000/ μ L), mais de façon non-significative. Ce résultat suggère que les seuils parasitaires de pathogénicité pourraient être différents dans le cas d'enfants malnutris. Ainsi l'état nutritionnel des enfants pourrait conditionner le déclenchement d'une crise clinique de paludisme.

A ce jour, aucune étude n'a été conduite concernant l'impact de la malnutrition sur les seuils de densité parasitaire déclenchant les crises cliniques.

L'ensemble de ces biais et différences méthodologiques explique en partie les divergences entre les résultats et ne permet pas d'atteindre un consensus sur la part de prédisposition au paludisme attribuable à la malnutrition.

3.3 Immunité et interaction malnutrition-paludisme chez l'enfant

3.3.1 L'immunité anti-palustre

L'immunité est définie par « un état de résistance à l'infection ou/et à la maladie » (OMS, 1964), quel qu'en soit le mécanisme immunologique. Une immunité anti-palustre effective met longtemps à se développer, même chez des individus vivant en zone endémique et qui sont fréquemment réinfectés. Cette immunité s'acquiert de façon progressive, elle est incomplète et éphémère. Sans entretien de l'infection, cette immunité est de courte durée, de l'ordre d'une à quelques années, on qualifie donc cette immunité de prémunition ou semi-immunité. Dans la plupart des cas, un stade d'immunité complète et stérile (état où le sujet infecté sera guéri et protégé contre toute nouvelle infection) ne sera jamais atteint, même chez les adultes n'ayant jamais quitté la zone d'endémie.

La résistance immunitaire à *P. falciparum* peut être innée ou acquise, activement ou passivement. Les deux types d'immunité sont complémentaires. L'immunité innée se mobilise dès le début (dans les premières heures) de toute infection en attendant la mise en place de l'immunité acquise qui est opérationnelle dans les dix jours suivant l'infection.

3.3.1.1 Immunité innée

L'immunité innée se distingue de l'immunité acquise par le fait qu'elle s'active très rapidement, sans immunisation, sans vaccination préalable. Elle se met en place dès le début de toute infection et se maintient jusqu'à la mise en place de l'immunité acquise.

L'immunité innée est ainsi considérée comme la première ligne de défense de l'organisme. Elle aide à la mise en place de l'immunité acquise qui est plus ciblée et spécifique du pathogène.

Des études cliniques, ainsi que des modèles murins de paludisme, suggèrent un rôle des réponses immunitaires innées dans le contrôle des primo-infections paludéennes. Chez la souris, la résistance au paludisme est dépendante de signaux liés à la production non-spécifique et précoce d'IFN- γ (Interféron- γ), d'IL-12 (Interleukine-12) et de TNF- α (tumor necrosis factor- α). De même, une sécrétion robuste d'IFN- γ est associée chez l'homme à une diminution de la prédisposition à l'infection. La production d'IL-18 serait également un élément important de la réponse immunitaire contre le parasite (Roetynck *et al.*, 2006).

Il existe chez l'hôte de nombreux facteurs de résistance innée contre le paludisme (autres qu'immunologiques). La plupart de ces facteurs identifiés sont d'origine génétique.

On évoque des facteurs de résistance érythrocytaires tels que les modifications de la chaîne bêta de l'hémoglobine (HbS, HbC et HbE), du taux de synthèse des chaînes de globine (alpha et bêta thalassémie), le déficit d'une enzyme érythrocytaire essentielle (glucose-6-phosphate déhydrogénase : G6PD) ou encore une modification des caractères de la membrane ou du cytosquelette des érythrocytes (groupe sanguin Duffy, ovalocytose héréditaire...).

Des facteurs de type non-érythrocytaire tels que le groupe HLA, le polymorphisme de la réponse immune ou encore les facteurs ethniques, pourraient également jouer un rôle dans la protection des individus (Rogier, 2003).

D'autres facteurs génétiques de sensibilité au paludisme semblent, par ailleurs, impliquer des récepteurs endothéliaux responsables de la cytoadhérence.

3.3.1.2 Immunité acquise et spécifique

Chez l'homme, l'immunité acquise à *P. falciparum* est un mélange de tolérance clinique (responsable d'une réduction des accès cliniques, en dépit de nouvelles infections) et d'une immunité antiparasitaire (responsable du contrôle de l'infection elle-même). La tolérance clinique survient plusieurs années avant l'immunité antiparasitaire.

Dans les zones de transmission élevée et stable, l'exposition répétée aux parasites aboutit à l'acquisition de cette immunité spécifique à *P. falciparum*. Cette immunité acquise est également observée dans les zones de faible transmission saisonnière mais elle beaucoup plus longue à se mettre en place.

Cette immunité est partielle, on parle alors de « prémunition » ou de « semi-immunité ».

Une immunité commence à être acquise dès les premières infections (Gupta *et al.*, 1999). Chez les enfants vivant en zone de paludisme stable, l'acquisition d'une immunité spécifique se manifeste par des modifications de la sensibilité parasitologique et clinique en fonction de l'âge, cette immunité acquise apparaît donc âge-dépendante (Baird, 1995).

Il y a d'importantes différences entre la vitesse de développement de l'immunité, en fonction du niveau d'endémicité et donc de la capacité vectorielle des anophèles présents. Une immunité qui se développe progressivement entre la jeune enfance et l'adolescence est typique d'une zone de paludisme stable ; la situation est assez différente dans une zone de paludisme instable, où l'immunité s'acquiert de façon plus lente et semble moins protectrice.

Dans les régions endémiques où la transmission est pérenne, les enfants nés de mères semi immunes semblent protégés de l'infection durant la moitié de leur première année de vie. Cette immunité des nourrissons serait acquise « passivement » par transfert transplacentaire d'immunoglobulines maternelles. Cependant cette protection est éphémère et s'estompe au cours du temps engendrant une augmentation de la sensibilité au paludisme chez les enfants à partir du sixième mois (Snow *et al.*, 1998).

Puis, dans les premières années de vie survient la période dite d' « infestation aiguë ». Elle dure environ deux ans mais peut être plus longue lorsque la transmission est moins importante. Pendant cette période, la fréquence des accès palustres est la plus élevée et le risque de formes graves et de décès est le plus important. En zone d'endémie élevée et de paludisme stable, la protection contre la mortalité et les formes graves de paludisme se met en place au cours de la quatrième année de vie. Au-delà de cinq ans, il est plutôt rare que les enfants décèdent de paludisme. Au fur et à mesure que l'enfant grandit, il développe ensuite une immunité qui le protège contre les accès palustres simples en diminuant leur durée et leur fréquence plutôt que leur gravité. Cette protection ne signifie pas pour autant que les enfants sont exempts de parasites. En effet, à ce stade, l'enfant continue à être infecté, supportant quelquefois des densités parasitaires très élevées, tout en étant asymptomatique ou en présentant des manifestations cliniques modérées. L'apparente protection de ces enfants contre les formes cliniques est qualifiée d' « immunité antitoxique » ou de tolérance clinique. On parle également d' « infestation immune ».

L'âge d'acquisition de cette tolérance clinique varie de façon importante avec le niveau de transmission (Trape *et al.*, 1993; Trape *et al.*, 1996; Rogier *et al.*, 1999). Un certain nombre et une certaine régularité des inoculations de *Plasmodium* sont nécessaires au développement de cette immunité. Dans les zones où la transmission est moins importante, la diminution de la morbidité liée à l'acquisition de la tolérance clinique est observée chez les personnes plus âgées. Lorsque le niveau de transmission est trop faible, on n'observe plus ou presque plus de diminution de la morbidité et de la mortalité avec l'âge.

Après le développement et la mise en place de l'immunité clinique, s'installe alors chez l'hôte une immunité antiparasite spécifique permettant le maintien de la densité parasitaire à un niveau faible, en dessous du seuil de pathogénicité. L'immunité antiparasitaire favorise la clairance parasitaire en limitant le développement des plasmodies.

Il est important de souligner que la prémunition, résultant de l'acquisition de l'immunité clinique et antiparasitaire, n'est pas stérilisante et n'empêche pas le portage du parasite. Ainsi, les sujets devenus semi-immuns représentent d'excellents « réservoirs » de *Plasmodium*.

L'acquisition de cette prémunition dépend fortement du contexte épidémiologique, de la saisonnalité et de l'intensité de transmission présente dans la zone géographique.

Dans certaines régions sèches, de paludisme instable, la transmission fluctue considérablement d'une saison et d'une année à l'autre, retardant et parfois même empêchant l'acquisition de l'immunité. Cette situation est rencontrée dans la majeure partie des pays d'Afrique sub-saharienne.

i. La réponse à médiation cellulaire

Les réponses immunes à médiation cellulaire jouent un rôle crucial dans l'immunité protectrice des individus infectés par *P. falciparum*. Cependant, il semble qu'elles puissent par ailleurs induire des dommages au niveau des tissus et contribuer au développement d'accès palustres graves. Ainsi, comprendre la régulation de la réponse à médiation cellulaire permettrait de déterminer si la réponse immunitaire de l'hôte permet de contrôler le développement du parasite ou si elle contribue à la pathogénèse.

Les réponses immunes à médiation cellulaire induites par l'infection par *P. falciparum* peuvent protéger à la fois, contre les stades de développement pré-érythrocytaires et contre les stades érythrocytaires du parasite (Troye-Blomberg *et al.*, 1994).

La réponse immune anti-palustre fait appel à de nombreuses activités cellulaires telles que la production d'anticorps (Ac), la phagocytose, la cytotoxicité cellulaire et l'inhibition parasitaire exercée par les lymphocytes, les neutrophiles et les phagocytes mononuclées. L'évolution de l'infection palustre est fortement dépendante de la balance entre les cytokines sécrétées par les différentes cellules activées (Troye-Blomberg *et al.*, 1999). Cependant, le taux et le type de cytokines présentes dans le sang périphérique n'est qu'une vue partielle de la médiation cellulaire mise en jeu lors de l'infection. D'une part, le degré de séquestration des parasites dans certains tissus peut réguler la production locale de cytokines et leur action autocrine ou paracrine (Udomsangpetch *et al.*, 1997). D'autre part, les taux sériques des médiateurs cellulaires et les cytokines produites par les cellules spécifiques des antigènes de *Plasmodium* sont également influencés par le niveau d'immunité acquise du sujet (Ringwald *et al.*, 1991).

Parmi les sous populations majeures des lymphocytes T, les cellules T CD4⁺ ont un rôle central dans la protection immune contre les stades asexués sanguins. Les cellules T CD8⁺ semblent de leur côté avoir d'importantes fonctions effectrices dans l'immunité pré-érythrocytaire (Nardin *et al.*, 1993).

Au cours de la réponse anti-palustre à médiation cellulaire, un certain nombre de cytokines est sécrété par les cellules spécifiques activées.

Certaines de ces cytokines sont capables d'inhiber le développement du parasite à certains stades de son cycle biologique. Ce processus fait intervenir les cytokines produites par les lymphocytes T (y compris IFN- γ , TNF- α , GM-CSF, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 et LT), mais aussi des cytokines (TNF- α et IL-1) produites par d'autres cellules (macrophages). Ces cytokines peuvent agir directement sur les cellules infectées en induisant leur lyse par une action cytotoxique, comme c'est le cas du TNF- α , mais dans la plupart des cas, elles agissent indirectement en induisant la production de médiateurs solubles par les macrophages ou les neutrophiles (par exemple, la production de radicaux libres d'oxygène et de monoxyde d'azote, NO).

Ainsi, les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN- γ , IL-1, et IL-6 pourraient avoir un effet protecteur en induisant la destruction des parasites par les monocytes/macrophages et les neutrophiles ainsi activés (Kumaratilake *et al.*, 1994 ; Troye-Blomberg *et al.*, 1999).

L'IL-12, produite en partie par les phagocytes, contribuerait également à la protection contre les stades pré-érythrocytaire et sanguin en initiant une réponse immunitaire de type Th1 anti-palustre (observée chez la souris et le singe (Stevenson *et al.*, 1995 ; Hoffman *et al.*, 1997)).

Au contraire, les cytokines anti-inflammatoires et de type Th2, telle que l'IL-10, neutralisent la production et les possibles effets des cytokines pro-inflammatoires (Deloron *et al.*, 1994; Ho *et al.*, 1995).

Des études sur l'infection à *P. falciparum* chez l'homme, soulignent l'importance de la balance entre les cytokines pro et anti-inflammatoires. En effet, il semble que les cytokines de type Th1 soient nécessaires pour agir de façon précoce sur la parasitémie. Les cytokines de type Th2 interviennent ensuite pour contrebalancer l'effet des cytokines Th1 pro-inflammatoires et induire la synthèse d'Ac spécifiques (Angulo *et al.*, 2002).

Le TNF- α apparaît comme une cytokine ayant un rôle central dans la protection et/ou la pathologie palustre. Cette cytokine ne détruit pas les parasites directement mais exerce sa protection en activant les effets anti-parasitaires de plusieurs cellules effectrices leucocytaires (Hoffman *et al.*, 1997) et en stimulant la sécrétion du NO (Nitric Oxyde) qui lyse les parasites (Kwiatkowski, 1999).

Cependant, au niveau pathologique, les niveaux du TNF- α s'avèrent positivement corrélés avec la sévérité de la maladie (Kwiatkowski *et al.*, 1993).

Ces résultats suggèrent l'importance de la régulation et de l'équilibre du taux de TNF- α .

ii. La réponse à médiation humorale

Chez les populations vivant dans des régions où le paludisme est endémique, l'infection palustre induit de fortes réponses immunes humorales. Le transfert passif des Ac spécifiques de donneurs immuns suggérait déjà, il y a bien longtemps, qu'ils pouvaient conférer une protection contre le paludisme (McGregor *et al.*, 1963; Orago *et al.*, 1991). Les Ac réduisent la parasitémie et les manifestations cliniques de la maladie. L'effet protecteur des Ac résulte soit d'une action directe sur le parasite ou la cellule parasitée, soit d'une synergie avec les cellules effectrices. Leur mode d'action est multiple en réponse à la présence du parasite. Au cours de l'infection, les Ac peuvent intervenir à plusieurs stades du cycle parasitaire :

- blocage des sporozoïtes parasites empêchant leur pénétration dans les hépatocytes
- neutralisation des toxines libérées lors de l'éclatement des schizontes
- formation d'agglomérats avec des mérozoïtes
- destruction des érythrocytes infectés par phagocytose ou inhibition de leur développement
- blocage du processus de cytoadhérence sur les cellules endothéliales
- blocage du développement des gamétocytes ou des oocystes chez le moustique.

Ces réponses immunitaires impliquent une production à prédominance d'IgM et d'IgG avec la production de toutes les sous classes: IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4. Bien qu'une grande proportion de ces immunoglobulines soit non spécifique des antigènes de *Plasmodium*, plus de 5% d'entre elles sont des Ac spécifiques qui réagissent avec une grande variété d'antigènes des parasites.

Chez les sujets vivant en zone d'endémie palustre, les réponses des sous classes d'IgG contre certains antigènes de *P. falciparum* (RESA (Ring Infected Erythrocyte Stage Antigen), MSP1 (Merozoïte Surface Protein 1), MSP2 (Merozoïte Surface Protein 2), Extraits de Schizontes) augmentent avec l'âge (Aucan *et al.*, 2001). Les sujets asymptomatiques présentent en majorité des Ac cytophiles (IgG1, IgG3) qui, associés aux cellules mononuclées, semblent favoriser la réduction de la parasitémie.

Les isotypes IgG1 et IgG3 sont considérés comme des Ac protecteurs, et le taux de guérison semble proportionnel au taux d'IgG3.

Les isotypes IgG2 et IgG4 sont, eux, considérés comme des Ac « bloquant » la réponse protectrice contre *P. falciparum*. En effet, les IgG4 et IgG2 (non cytophiliques) sembleraient concurrencer les Ac cytophiles (ayant une affinité pour diverses cellules en particulier de la lignée macrophagique) pour la reconnaissance de l'antigène. Par conséquent les IgG4 et IgG2 induiraient le blocage de la cyto-toxicité générée par les effecteurs cellulaires activés par les Ac cytophiliques (IgG1 et IgG3).

Cependant, une étude montre que la réponse IgG2 dirigée contre certains antigènes (RESA et MSP2), serait associée à une résistance à l'infection par *P. falciparum* (Aucan *et al.*, 2000).

La protection contre les stades sanguins du parasite apparaît donc plutôt dépendante du rapport (ou équilibre) entre la proportion d'IgG1/IgG3 spécifiques et la proportion d'IgG2/IgG4 spécifiques (Garraud *et al.*, 2003).

3.3.2 Impact de la malnutrition sur l'immunité anti-paludisme

Bien que l'impact de la malnutrition sur la prédisposition palustre soit sujet à controverse, il semble très probable que l'état nutritionnel de l'hôte joue un rôle déterminant dans le développement du parasite et le devenir de l'infection.

L'effet délétère de la malnutrition sur la réponse immune anti-pathogène est reconnu de façon unanime. Certaines études ont, par ailleurs, mis en évidence le rôle immuno-modulateur des micronutriments dans l'immunité anti-pathogène (Scrimshaw *et al.*, 1968; Schaible *et al.*, 2007).

Plusieurs interventions ont été menées en zone d'endémie palustre afin d'évaluer l'impact de la supplémentation en micronutriments (vitamine A, zinc et fer principalement) sur la morbidité des enfants et de relier cet effet à une modulation de l'immunité des individus. Ainsi, un essai randomisé vitamine A contre placebo réalisé en Papouasie Nouvelle Guinée chez des enfants de moins de cinq ans, suggère que la supplémentation en vitamine A pourrait potentialiser l'acquisition de l'immunité après exposition à *P. falciparum* (Shankar *et al.*, 1999). Selon une autre étude, l'effet bénéfique de la vitamine A sur la morbidité palustre pourrait agir au travers de deux mécanismes (Serghides *et al.*, 2002) :

- l'un, impliquant une augmentation de la phagocytose des érythrocytes non-opsonisés, par l'intermédiaire de la surexpression des récepteurs CD36 impliqués dans la cytoadhérence spécifique de *Plasmodium*
- l'autre, induisant une diminution de la sécrétion de TNF- α .

En ce qui concerne la supplémentation en fer, les résultats des études (précédemment décrites dans la partie 3.2.1.i) semblent indiquer une augmentation de la prédisposition au paludisme chez les enfants recevant un complément en fer (Sazawal *et al.*, 2006). L'hypothèse la plus plausible suggère que le développement du parasite serait favorisé par la disponibilité du fer à l'intérieur des tissus de l'hôte (Iannotti *et al.*, 2006). Du point de vue de l'immunologie, aucune étude n'a réussi à identifier précisément les mécanismes immunitaires de l'hôte impliqués dans l'augmentation de la morbidité palustre lors de la supplémentation en fer.

A ce jour, quatre études seulement ont été menées sur la relation entre malnutrition et réponse immunitaire spécifique à *P. falciparum* (Carswell *et al.*, 1981; Dominguez-

Vazquez et al., 1990; Genton et al., 1998; Blair et al., 2002). Cependant, les résultats de ces études divergent.

L'étude la plus ancienne, conduite au début des années 1980 en Tanzanie chez 244 enfants d'âge scolaire, ne mit pas en évidence de relation entre les concentrations d'Ac anti-*Plasmodium* et l'état nutritionnel des enfants (Carswell *et al.*, 1981).

Contrairement à cette première étude, une étude transversale, menée en 1990 en Colombie, incluant des enfants de moins de six ans, conclut que la moyenne géométrique des taux d'Ac anti-*P. falciparum* était plus faible chez les enfants souffrant de malnutrition (Dominguez-Vazquez *et al.*, 1990). Ces résultats sont à leur tour contredits dix ans plus tard, par une deuxième étude colombienne indiquant que les enfants âgés de 4 à 9 ans, infectés par *Plasmodium* (*vivax* ou *falciparum*) et souffrant de malnutrition présentaient des taux plus élevés d'Ac anti-schizonte *P. falciparum* (IgM) et de cytokines sériques (TNF- α et IL-10) que les enfants bien portants (Blair *et al.*, 2002).

Une fois encore, il semble que les divergences des résultats entre ces trois études soient liées à des différences méthodologiques, les plus importantes concernant l'âge des enfants et leur inclusion ainsi que la définition et l'estimation de la malnutrition ou encore la nature isotypique des Ac mesurés et le type d'antigènes étudiés.

A ce jour, une seule étude d'observation longitudinale a exploré en détail la relation entre malnutrition, morbidité palustre et immunité (Genton *et al.*, 1998). Cette étude fut conduite à la fin des années 1990 en Papouasie Nouvelle Guinée incluant 136 enfants âgés de 10 mois à 10 ans, suivis sur une période d'un an.

Les résultats concernant l'étude de la relation malnutrition et prédisposition au paludisme, montrent que le risque relatif de crise palustre augmente de 19% lorsque le HAZ (taille/âge) des enfants augmente d'une unité, ce qui suggère une protection des enfants retardés en taille vis-à-vis du paludisme.

Du point de vue de la réponse immune, les enfants émaciés présentent de plus faibles taux d'IgG dirigées contre les antigènes plasmodiaux RESA et Spf66, alors que la réponse à médiation cellulaire spécifique à l'antigène MSP2 semble plutôt être modulée chez les enfants retardés en taille. En effet, chez ces derniers la stimulation *in-vitro* des lymphocytes par MSP2 montre une plus forte sécrétion d'IFN- γ . Les auteurs supposent alors que l'IFN- γ pourrait être impliqué dans la protection contre le paludisme des enfants retardés en taille. Toutefois, aucune association n'a été mise en évidence au sein de la même cohorte d'enfants entre le taux d'IFN- γ et la morbidité palustre (al-Yaman *et al.*, 1997). Les auteurs modèrent également leur hypothèse par le fait que la sécrétion de cytokines par stimulation *in-vitro* des lymphocytes par des antigènes plasmodiaux ne reflète pas la concentration de ces substances dans le plasma (Genton *et al.*, 1998).

Cette étude suggère donc que le retard de croissance staturale pourrait protéger les enfants contre le paludisme et que cette protection pourrait être liée à une modulation de la réponse immunitaire de l'hôte.

De plus, l'ensemble des résultats semblent indiquer un effet immunologique différent selon le type de malnutrition (émaciation vs. retard de croissance en taille). De manière très générale, l'émaciation serait impliquée dans la régulation de la réponse anticorps, alors que le retard de croissance en taille induirait plutôt une modulation de la réponse cellulaire.

Chapitre 4 : Problématique et hypothèses de recherche

En Afrique sub-saharienne paludisme et malnutrition coexistent fréquemment chez les enfants de moins de cinq ans. Selon les estimations de l'OMS, 36 millions d'enfants vivant dans cette région d'Afrique souffriraient d'insuffisance pondérale et, chaque année, près de 750 000 décès seraient liés au paludisme (OMS, 2008).

Comprendre l'interaction malnutrition/paludisme est indispensable pour pouvoir mettre en place des interventions efficaces qui permettraient d'agir en synergie sur ces deux affections.

En effet, il est important de savoir dans quelle mesure la prévention contre le paludisme, si elle est associée aux interventions nutritionnelles, permet de réduire la malnutrition des enfants. Réciproquement, il est important de savoir s'il est nécessaire de prendre en compte l'état nutritionnel des enfants dans le cadre d'interventions visant à contrôler le paludisme, afin d'optimiser l'efficacité des traitements administrés.

Jusqu'à ce jour, l'influence de la malnutrition sur la prédisposition palustre est très controversée et les résultats des études menées à ce sujet sont contradictoires. D'importantes différences méthodologiques entre les études semblent expliquer cette divergence des résultats.

A l'inverse, la majorité des études concernant l'effet de la prévention du paludisme sur l'état nutritionnel des enfants s'accorde à montrer une amélioration du poids des enfants lorsqu'ils sont protégés de l'infection. Cependant, la plupart de ces études ont été menées dans le cadre d'interventions visant à évaluer l'efficacité des moustiquaires imprégnées. Or, depuis une dizaine d'années, le traitement préventif intermittent (TPI) est apparu comme un nouvel outil particulièrement efficace dans la lutte contre le paludisme. Plusieurs interventions, ciblant essentiellement les femmes enceintes et les enfants de moins de deux ans, ont été menées en Afrique dans des zones de transmission intense et pérenne du paludisme. Pour autant, dans certaines régions d'Afrique sub-saharienne, le caractère saisonnier de la transmission du paludisme engendre une morbidité palustre accrue chez les enfants plus âgés. Au début des années 2000, un essai clinique est envisagé au Sénégal dans le but d'adapter le TPI aux enfants de moins de 5 ans vivant en zone de transmission fortement saisonnière. Implanté au Sénégal depuis de nombreuses années, l'Institut de Recherche pour le Développement apparaît comme un partenaire décisif dans la réalisation d'une telle intervention. L'essai TPI, financé par la fondation Bill et Melinda Gates, naît en 2002 de la collaboration entre l'Université de Dakar Cheikh Anta Diop, de la London School of Hygiene and Tropical Medicine et de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD). Deux unités de recherche de l'IRD vont prendre part au projet : l'unité de paludologie afro-tropicale (UR77) et l'unité « Epidémiologie et Prévention » (UR24). Les projets de recherche menés au sein de l'UR24 visent à identifier les facteurs environnementaux de prédisposition et d'exposition aux maladies nutritionnelles et infectieuses et à évaluer dans quelle mesure ils influencent l'efficacité des interventions de santé. Pour l'équipe nutrition de l'UR24, l'essai TPI représente alors l'opportunité d'étudier la relation paludisme/malnutrition. En effet, la conception même de cette intervention représente

un intérêt certain pour étudier cette thématique, essentiellement explorée, jusque là, dans le cadre d'interventions concernant les moustiquaires imprégnées. Théoriquement, les enfants traités par le TPI ne devraient développer aucun accès palustre. Par conséquent, cette étude permettrait de constituer un véritable groupe « témoin » pour la nutrition. En effet, puisque les enfants traités ne devraient développer aucune crise palustre, voire ne présenter aucune parasitémie, leur état nutritionnel ne devrait donc pas être exposé à l'effet de la morbidité palustre, ce qui n'est pas le cas des interventions évaluant l'efficacité des moustiquaires imprégnées. A l'inverse, le groupe recevant le placebo ne sera pas protégé contre le paludisme. Ainsi, cet essai permettrait de comparer l'état nutritionnel d'enfants indemnes de paludisme à celui d'enfants ayant été exposés au parasite.

De plus, cette intervention a été la première à adapter le TPI aux enfants de moins de cinq ans vivant en zone de transmission saisonnière du paludisme. La malnutrition affectant particulièrement les enfants de cette tranche d'âge, l'état nutritionnel des enfants pouvait alors être considéré comme un critère d'efficacité de l'intervention.

Cet essai randomisé, traités contre placebo, débute donc en septembre 2002. Cette intervention comprend deux phases : une première phase correspondant à l'administration du TPI lors de la première saison de transmission, la deuxième phase correspondant à un suivi d'observation de la morbidité palustre lors de la saison de transmission suivante.

L'objectif de l'essai au cours de la première saison de transmission est d'évaluer l'efficacité du TPI administré aux enfants. Le suivi mis en place lors de la deuxième saison de transmission a pour objectif d'évaluer l'apparition d'un effet rebond suite à l'arrêt du traitement qui se traduirait par une augmentation de la morbidité palustre chez les enfants du groupe traité par rapport à ceux du groupe témoin (étude « rebond »).

Le TPI se révéla très efficace dans cette zone rurale de transmission saisonnière du paludisme en réduisant de 86% le nombre de crises palustres chez les enfants traités (Cissé *et al.*, 2006). De plus, aucun effet rebond n'est mis en évidence lors de la saison de transmission suivante.

Une enquête anthropométrique est réalisée au début et à la fin de chaque période de suivi (septembre et décembre 2002, juillet et décembre 2003) afin d'évaluer l'impact du TPI sur l'état nutritionnel des enfants. A la fin de la première saison de transmission, les enfants traités présentent un gain de poids significativement supérieur à celui des enfants ayant reçu le placebo. L'augmentation de la prévalence de l'émaciation dans le groupe « placebo » est supérieure à celle du groupe ayant reçu le TPI suggérant que la morbidité palustre est responsable de la détérioration de l'état nutritionnel des enfants (Ntab *et al.*, 2007). Malheureusement, ce bénéfice pondéral ne persiste pas à la fin de la saison sèche. En effet, au moment de l'inclusion des enfants dans l'étude « rebond » en juillet 2003, l'état nutritionnel des enfants des deux groupes est similaire.

Toutefois, à la fin de l'étude « rebond » (décembre 2003), une très forte diminution de la prévalence du retard de croissance en taille est observée chez tous les enfants inclus dans l'intervention : traités et placebo. Le statut en taille des enfants s'est donc considérablement amélioré au cours de l'intervention. Ce résultat est très surprenant car jamais une amélioration de cette importance ne fut observée dans cette région d'Afrique. Cette réduction de la prévalence du retard de croissance ne semble pas liée au TPI administré aux enfants. En effet, d'une part elle est observée dans les deux groupes d'intervention et d'autre part elle est plus importante lors du suivi de l'étude « rebond » alors qu'aucune chimioprévention n'a été administrée.

Toutefois, lors du suivi de l'étude « rebond », les enfants des deux groupes étaient examinés toutes les semaines à domicile et à chaque suspicion de crise palustre (goutte épaisse positive + fièvre) l'enfant était immédiatement traité par administration d'antipaludéens.

Une des hypothèses alors proposées pour expliquer l'amélioration du statut en taille des deux groupes d'enfants est, non pas l'effet propre du TPI, mais plutôt le rôle de la détection active et du traitement rapide des suspicions et des crises palustres dont ont bénéficié tous les enfants inclus dans l'intervention (Ntab *et al.*, 2007).

Notre premier objectif a donc été d'essayer de vérifier cette hypothèse.

Après avoir étudié l'impact de la prise en charge de la morbidité palustre sur l'état nutritionnel des enfants, nous nous sommes intéressés à la relation réciproque, à savoir, est-ce que la malnutrition conditionne le risque de survenue d'une crise palustre ?

L'intervention TPI permet d'étudier cette question grâce au suivi observationnel mis en place lors de l'étude rebond. Premièrement, à l'inclusion dans l'étude rebond (juillet 2003), les enfants des deux groupes ont un état nutritionnel similaire et sont donc comparables du point de vue nutritionnel. Deuxièmement, aucun effet rebond n'a été mis en évidence, les enfants des deux groupes sont donc également comparables en terme de prédisposition palustre. Et enfin, l'état nutritionnel des enfants est mesuré à l'inclusion de l'étude rebond au mois de juillet, ce qui permet d'avoir une mesure de l'état nutritionnel au début de la saison de transmission. Ainsi, la malnutrition observée en juillet n'est, théoriquement, pas affecté par la morbidité palustre. De plus, le suivi de 2003 présente l'avantage de rapporter la morbidité palustre des enfants sur la totalité de la saison de transmission. En effet, en 2002 le suivi n'ayant démarré qu'au mois de septembre, l'information concernant la morbidité du mois de juillet au mois de septembre n'a pas été collectée.

Cet essai TPI se révèle particulièrement pertinent pour répondre à l'objectif principal de cette thèse qui est d'étudier l'interaction entre paludisme et malnutrition.

Le point de départ des travaux présentés ici a été l'amélioration considérable du statut en taille observée chez tous les enfants inclus dans l'intervention.

De cette observation a découlé le premier objectif de cette thèse:

- la prise en charge active (détection + traitement) des crises et des suspicions palustres lors de l'intervention est-elle associée à l'amélioration observée du statut en taille des enfants ?

Puis, dans ce contexte d'amélioration du statut en taille des enfants, nous nous sommes interrogés sur :

- l'influence de la malnutrition des enfants en début de saison de transmission sur la prédisposition au paludisme.

De nombreux facteurs peuvent expliquer les constatations épidémiologiques résultant de ces deux objectifs. On compte parmi eux, des facteurs environnementaux, comportementaux ou sociétaux. Mais ces observations épidémiologiques peuvent également s'expliquer par des effets biologiques tels que la prédisposition génétique de l'hôte ou son statut immunitaire.

Il a été démontré et largement reconnu que l'état nutritionnel influence le développement de l'immunité des enfants ainsi que le bon fonctionnement de la réponse immunitaire (Scrimshaw *et al.*, 1968; Cunningham-Rundles *et al.*, 2005; Schaible *et al.*, 2007). Une étude menée en Papouasie Nouvelle Guinée a par ailleurs suggéré que la protection des enfants retardés en taille serait liée à une augmentation de la production de cytokines impliquées dans la réponse immune à médiation cellulaire (Genton *et al.*, 1998).

Ces éléments nous ont conduit à explorer une approche immunologique pour tenter d'expliquer les constatations épidémiologiques concernant la relation malnutrition/paludisme. Dans cette démarche, nous avons choisi, comme dernier objectif de cette thèse, d'étudier l'influence de la malnutrition des enfants sur la réponse immune globale anti- *P. falciparum*.

Objectif principal :

Etude de l'interaction malnutrition/paludisme chez l'enfant de moins de cinq ans vivant en zone de transmission modérée et saisonnière du paludisme

Approche épidémiologique

Objectif spécifique n° 1 :

La prise en charge active des crises et des suspicions de crises palustres améliore-t-elle le statut en taille des enfants ?

Objectif spécifique n° 2 :

La malnutrition des enfants en début de saison de transmission influence-t-elle la prédisposition au paludisme ?

Approche immunologique

Objectif spécifique n° 3 :

La malnutrition des enfants en début de saison de transmission module-t-elle la réponse immune globale anti- *P. falciparum* ?

Deuxième partie :
Travaux menés et résultats

Chapitre 1 : Contexte des travaux

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse résultent en grande partie d'un essai clinique conduit en 2002 et 2003 dans une zone rurale du Sénégal (Niakhar) afin d'évaluer l'efficacité du traitement préventif intermittent saisonnier du paludisme chez les enfants de moins de 5 ans (Cisse *et al.*, 2006).

1.1 Présentation de la zone d'étude de Niakhar

La zone de Niakhar est située à 150 km à l'est de Dakar, dans la région du Sine Saloum (figure 8). C'est une zone rurale soumise au climat soudano-sahélien continental rythmé par deux saisons distinctes : la saison sèche, d'octobre à juin, et la saison des pluies de juillet à septembre. Quelques marigots ou mares sont mis en eau par les pluies et s'assèchent rapidement dès le début de la saison sèche. La zone comporte 30 villages (figure 9), subdivisés en hameaux puis en concessions et en cuisines.



Figure 8: Situation géographique de la zone de Niakhar. Source: IRD

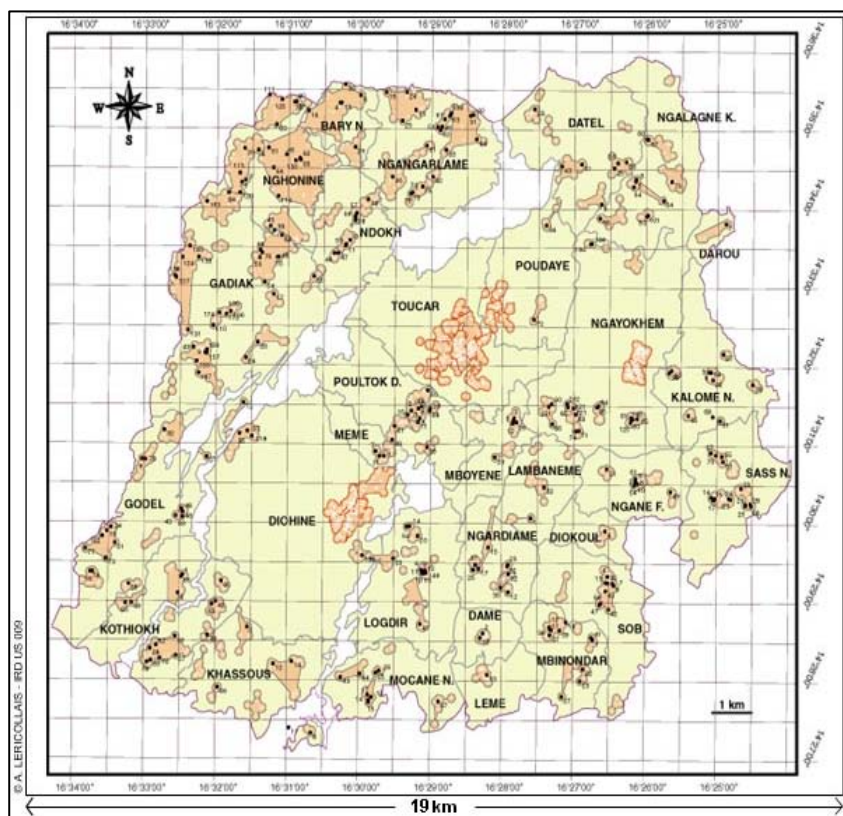


Figure 9: Découpage de la zone de Niakhar en villages. Source: IRD

1.1.1 Données démographiques

En 2004, la zone comptait environ 33 900 habitants répartis sur 230 km² (Munier *et al.*, 2009), avec une forte densité de population (en moyenne 131 habitants/km²).

La zone est peuplée à 96,4% par l'ethnie sérère sine. Toutefois, cette population se caractérise par sa diversité religieuse avec 74,5% de musulmans, 22,4% de chrétiens et 2,6% de pratiquants la religion traditionnelle (animiste). On note de fortes concentrations de population au centre de la zone, dans les villages de Toucar, Diohine et Ngayokhème avec plus de 2000 habitants par village.

L'unité résidentielle type est celle dite « composée », qui comprend un ou plusieurs ménages regroupant les membres d'une famille étendue, dite patrilinéaire. Les maisons traditionnelles sont des cases (toute femme qui s'est déjà mariée en possède une, et d'autres cases sont destinées aux adultes célibataires). Les bâtiments modernes, construits avec du béton et de la tôle ondulée, tendent à remplacer les habitations traditionnelles faites de briques en terre (banco) surmontées d'un toit en paille (43% des habitations comportent au moins un toit de tôle ondulée). L'accès aux points de forage et aux fontaines d'eau potable s'est amélioré au cours des dernières décennies : 60% des ménages peuvent désormais boire l'eau du robinet. L'utilisation de latrines est plus récente : seulement 22% des ménages disposent de telles infrastructures (Delaunay *et al.*, 2002).

La mortalité générale a connu une baisse considérable au cours des 20 dernières années. Entre 1984 et 1997, la mortalité infantile est passée de 122 à 73‰ tandis que la mortalité infanto-juvénile (enfants de 0 à 5 ans) est passée de 282 à 174‰. Près de la moitié de la mortalité chez les enfants âgés de moins de cinq ans est imputable aux maladies diarrhéiques, aux infections respiratoires aiguës et à la malnutrition, et le quart est attribuable au paludisme (Delaunay *et al.*, 2001).

L'espérance de vie moyenne à la naissance s'est également améliorée, passant de l'âge de 27 ans en 1963 à plus de 50 ans en 2001 (Levi, 2002).

L'augmentation de l'espérance de vie et du taux de scolarisation, la diminution de la mortalité infanto-juvénile et la très légère baisse de la fécondité traduisent une amélioration sensible des conditions de vie dans la zone.

Dans cette partie du bassin arachidier du Sénégal, l'activité principale est l'agriculture comprenant la culture de l'arachide, du mil et du sorgho. L'alimentation est essentiellement à base de mil, de riz et d'arachides avec de faibles quantités de protéines. L'élevage des bovins, caprins, ovins et de la volaille est également pratiqué dans la zone.

La zone de Niakhar est sous surveillance démographique de l'IRD (ex-ORSTOM) depuis 1963. Cette surveillance est menée selon le principe du recensement initial, puis du suivi de la population en continu. Un numéro d'identification est attribué à tous les résidents de la zone. La surveillance a d'abord été annuelle de 1963 à 1986, puis hebdomadaire de

1987 à 1997 et finalement trimestrielle de 1997 à nos jours. De 1987 à 1997, les habitants ont bénéficié de la mise en place de programmes vaccinaux (rougeole et coqueluche). Ils disposent encore de façon intermittente de la présence de médecins dans les dispensaires et de soins à domicile, particulièrement pour les maladies infantiles.

1.1.2 Alimentation et état nutritionnel des enfants de Niakhar

L'allaitement maternel n'y est pas exclusif, car tous les enfants reçoivent de l'eau à boire en plus de l'allaitement maternel. En général, les enfants sont allaités jusqu'à l'âge de 2 ans environ. Quatre-vingt quinze pour cent des enfants sont encore allaités à 18 mois, contre 50% à 24 mois et 5% à 30 mois. A partir d'un certain âge les enfants reçoivent des aliments dits de complément, qui peuvent être, soit une bouillie de mil, soit le plat familial (Delaunay, 1998).

Comme dans tout le Sahel, l'état nutritionnel est soumis à d'importantes variations saisonnières, avec un poids maximum en saison sèche (avril-mai) et un poids minimum en fin d'hivernage (septembre-octobre). L'état nutritionnel est en général bon pour les plus jeunes nourrissons et s'aggrave chez les plus âgés, chez qui les variations saisonnières sont également les plus fortes. Parmi les enfants de 9 mois, le poids moyen peut varier de 1 kg, entre un maximum de 8kg en saison sèche (souvent début avril) et un minimum de 7kg en fin de saison des pluies.

Grâce à la surveillance de l'IRD dans la zone depuis les années 1960, l'état nutritionnel des enfants a fait l'objet d'enquêtes aussi bien anthropométriques qu'alimentaires.

De plus, les Enquêtes Démographiques et de Santé (EDS, ou DHS en anglais) ont également permis de connaître l'évolution du statut nutritionnel des enfants dans la région depuis plus d'une vingtaine d'années.

Afin d'estimer l'état nutritionnel actuel des enfants de moins de cinq ans vivant dans la zone de Niakhar, une enquête anthropométrique a été conduite au mois de mai 2009 dans les 30 villages de la zone, incluant 2037 enfants de moins de cinq ans.

Le tableau 6 indique l'évolution de la malnutrition des enfants de moins de 5 ans dans le centre du Sénégal en 1992 (regroupant les régions de Fatick, Kaolack, Louga et Diourbel), à Fatick en 2000 et 2005 ainsi que la prévalence de la malnutrition à Niakhar en 2009.

Tableau 6: Prévalence de la malnutrition des enfants de moins de cinq ans vivant dans le centre du Sénégal en 1992, à Fatick en 2000 et 2005 et dans la zone de Niakhar en 2009 selon deux références internationales.

	Centre du Sénégal		Fatick		Niakhar
	EDS-II-1992/1993	MICS-II-2000	EDS-IV-2005	IRD- 2009	
Prévalence (%)					
Référence NCHS					
Retard de croissance staturale	28,2	27,8	14,6	15,4	
Emaciation	9,2	9,3	8,4	4,0	
Insuffisance pondérale	24,6	26,0	16,0	16,8	
Standards OMS					
Retard de croissance staturale	38,6	35,7	21,0	21,2	
Emaciation	10,1	11,3	9,7	3,4	
Insuffisance pondérale	25,1	23,5	12,7	11,8	

Sources : www.measuresdhs.com, www.who.int/nutgrowthdb/database/countries/sen/en/.

La prévalence du retard de croissance staturale et de l'insuffisance pondérale dans la zone de Niakhar sont proches de celles estimées pour la région de Fatick en 2005 par les données EDS. Il semble, par contre, que l'émaciation soit moins fréquente dans la zone qu'au niveau régional.

1.1.3 Épidémiologie du paludisme dans la zone

Au Sénégal, le paludisme reste le premier motif de consultations dans les structures officielles de santé et la principale cause de décès parmi les enfants, représentant 27,6 % de la mortalité infanto-juvénile (OMS, 2008). Le paludisme sévit à l'état endémique dans tout le Sénégal, toutefois son épidémiologie est caractérisée par l'hétérogénéité des niveaux d'endémicité et des modalités de transmission. Celle-ci est particulièrement intense dans les zones rurales, là où l'accès aux soins est le plus limité.

Les caractéristiques de l'endémicité sont spécifiques aux zones géographiques qui composent le Sénégal : le nord hypo-endémique présente une transmission faible et instable, dans la région du centre le paludisme est mésoendémique avec une transmission saisonnière, et au sud, le paludisme est hyper-endémique avec des recrudescences saisonnières.

Dans la zone de Niakhar, *P. falciparum* est la seule espèce plasmodiale responsable du paludisme. La transmission du parasite est saisonnière, concentrée sur la saison des pluies avec un pic de transmission en septembre-octobre, induisant par conséquent un pic de mortalité en octobre-novembre. La transmission correspond globalement à un paludisme mésoendémique (Entomologic Inoculation Rate=10) et présente des variations locales en durée et en intensité.

L'épidémiologie du paludisme dans la zone de Niakhar apparaît liée aux particularités écologiques spécifiques de chacun des villages étudiés (Robert *et al.*, 1998). En effet, il existe des disparités de transmission entre les différents villages composant cette zone. La résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques (notamment la chloroquine), apparue il y a quelques années, est devenue une cause croissante de mortalité infanto-juvénile. La

perte d'efficacité des antipaludiques a mis en avant non seulement le besoin de nouveaux traitements antipaludiques, mais aussi la nécessité de développer de nouvelles approches pour prévenir l'infection, particulièrement chez les jeunes enfants.

1.2 Présentation de l'intervention TPI

1.2.1 Efficacité du TPI : objectif principal de l'essai

Depuis une dizaine d'année, le traitement préventif intermittent (TPI) apparaît comme une nouvelle approche pour prévenir la morbidité palustre chez les femmes enceintes et les nourrissons vivant en zone hyper-endémique où la transmission du paludisme est pérenne. Cependant, en zone sahélienne la transmission est très saisonnière, et le pic de morbidité palustre annuel se situe habituellement en fin d'hivernage. L'idée de l'utilisation du TPI du paludisme en zone de transmission saisonnière naît de la collaboration entre l'université de Dakar Cheikh Anta-Diop, la London School of Hygiene and Tropical Medicine et de l'Institut de Recherche pour le Développement.

Ainsi, pour évaluer l'effet du TPI sur la morbidité palustre, un essai randomisé en double aveugle contre placebo débute en septembre 2002 dans la zone de Niakhar. Cette intervention, financée par la fondation Bill et Melinda Gates, repose sur l'administration, en trois prises annuelles au moment du pic de transmission, d'un traitement préventif intermittent combinant artésunate (AS) et sulfadoxine-pyriméthamine (SP). L'utilisation de cette combinaison entre dans les recommandations de l'OMS qui préconise l'utilisation des ACT (artemesinin-based combinations) pour éviter l'émergence de résistances de *P. falciparum* aux antipaludiques. De plus les ACT présentent de nombreux avantages tels que la réduction rapide de la charge parasitaire et la diminution du risque de portage gamétocytaire.

La SP assure le relai de destruction parasitaire du fait de sa longue demi-vie comparativement à l'AS qui a une action rapide mais une demi-vie courte. De sorte que dans cette combinaison thérapeutique, les parasites qui auraient résisté à l'AS soient détruits sous l'action prolongée de la SP.

Au total 1088 enfants de moins de cinq ans sont inclus dans l'intervention TPI et randomisés en deux groupes : un groupe traité et un groupe placebo.

De septembre à novembre 2002, chacun des deux groupes reçoit une fois par mois, soit la combinaison artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine, soit un placebo (figure 10). Tous les enfants bénéficiaient également d'un suivi des crises palustres par visites hebdomadaires à domicile et traitement curatif des crises palustres confirmées.

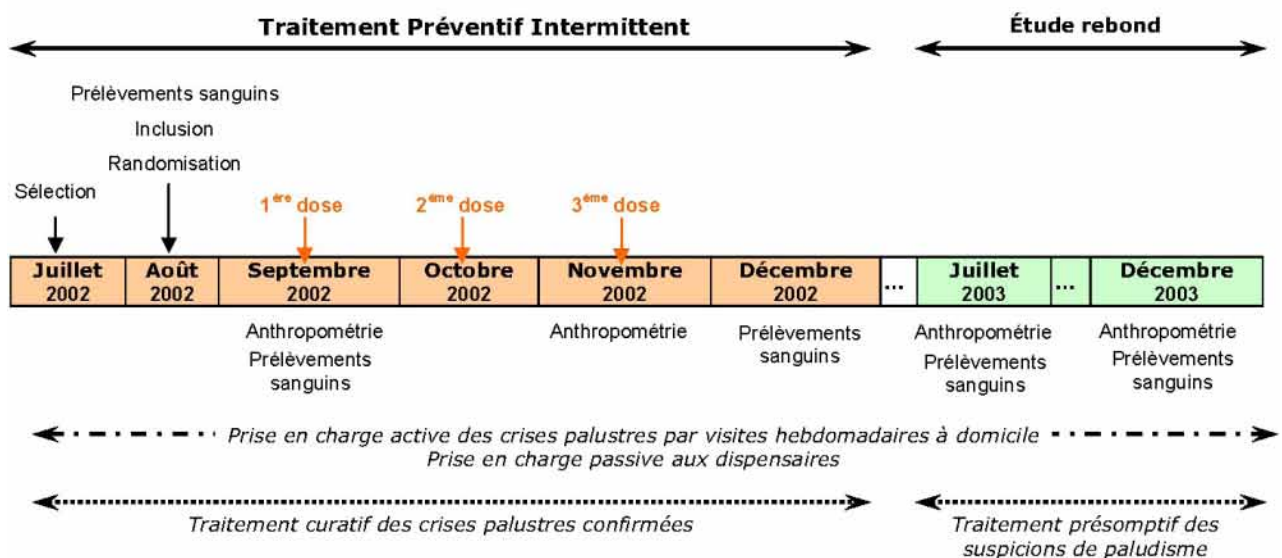


Figure 10: Conception de l'intervention

La mesure de l'efficacité du TPI est basée sur la comparaison entre les deux groupes par le recensement des cas de paludisme.

Au cours des 13 semaines de suivi, 39 accès palustres ont été rapportés chez les enfants traités contre 222 chez les témoins, soit une réduction de 86 % du nombre d'accès palustres chez les enfants ayant bénéficié du traitement préventif. L'intervention a été bien tolérée, avec seulement quelques cas de vomissements chez les enfants lors du traitement.

Les résultats de cet essai montrent que ce traitement confère une remarquable protection contre le paludisme chez les jeunes enfants, ceci dans un environnement de transmission saisonnière où des niveaux très élevés de mortalité palustre sont régulièrement observés chaque année pendant les quelques mois d'hivernage. Ce traitement préventif intermittent est en grande partie assimilable à une chimioprophylaxie espacée, à dose thérapeutique et de courte durée. Du fait du petit nombre de prises d'antipaludiques sur lequel repose cette nouvelle approche pour prévenir le paludisme, son coût est modeste et sa mise en œuvre facilitée.

Combinant deux antipaludiques différents, les souches chimio-résistantes du parasite ne devraient pas apparaître trop rapidement.

Suite à l'arrêt du traitement préventif intermittent, une étude longitudinale observationnelle a été conduite lors de la saison des pluies suivante de juillet à décembre 2003, afin d'observer l'apparition d'un éventuel effet rebond du traitement. Cet effet rebond est défini comme une augmentation de la morbidité palustre chez les enfants ayant reçu le traitement l'année précédente par rapport aux enfants ayant reçu le placebo. Lors de ce suivi aucune chimioprévention n'a été administrée aux enfants mais ceux-ci bénéficiaient d'une prise en charge active et rapide des crises palustres. De plus, un traitement présomptif était administré aux enfants en cas de suspicion de paludisme.

Pour l'administration du traitement présomptif, les enfants étaient inclus dans une sous-étude de cohorte ouverte en simple aveugle ayant pour but de tester l'efficacité de trois combinaisons thérapeutiques : amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine, sulfadoxine-pyriméthamine + artesunate et amodiaquine + artesunate. Ces trois combinaisons contiennent chacune une molécule à longue demi-vie, les rendant donc similaires du point de vue de la durée de leur activité thérapeutique.

Ce suivi ne mit pas en évidence d'augmentation de la morbidité palustre chez les enfants traités en 2002 comparés à ceux ayant reçu le placebo, l'arrêt du TPI n'a donc pas eu d'effet rebond (Cissé *et al.*, 2006).

1.2.2 La nutrition : un objectif secondaire de l'intervention

Un des objectifs secondaires de cet essai était d'évaluer l'impact du traitement préventif intermittent saisonnier sur l'état nutritionnel des enfants. Pour cela, quatre enquêtes transversales anthropométriques ont été conduites en septembre et novembre 2002, puis en juillet et décembre 2003 (figure 10). Ces enquêtes ont permis de mesurer la taille, le poids, le périmètre brachial et les plis cutanés (sous-scapulaire et tricipital).

Les résultats de la comparaison de l'état nutritionnel des enfants traités à celui des enfants placebo ont été détaillés dans la première partie, chapitre 3, section 3.1.2.3.

En résumé, le TPI permet d'améliorer à court terme le poids des enfants traités en comparaison aux enfants non traités. Toutefois ce bénéfice pondéral n'était plus perceptible en juillet 2003.

Bien qu'aucune différence de taille ne fût mise en évidence entre les deux groupes d'intervention, une importante diminution de la prévalence de retard de croissance staturale fut observée à la fin de l'intervention en décembre 2003 chez tous les enfants inclus : traités et placebo (Ntab *et al.*, 2007).

L'ensemble des travaux menés au cours de cette thèse, et exposés ci-après, repose principalement sur les données collectées lors de l'intervention TPI.

Chapitre 2 : Impact de la prise en charge rapide des crises et des suspicions de crises palustres sur la croissance en taille des enfants

2.1 Présentation de l'étude

L'impact de la morbidité palustre sur l'état nutritionnel des enfants a été étudié dans le cadre d'interventions visant à évaluer l'efficacité de la prévention contre le paludisme, telle que la mise en place de moustiquaires imprégnées ou encore l'administration de traitements préventifs intermittents. La plupart de ces études ont conclu à un effet bénéfique de la prévention du paludisme sur le gain de poids des enfants mais n'ont pas mis en évidence d'impact sur leur croissance en taille (cf tableau 4). Cependant, lors de l'essai clinique du TPI saisonnier dans la zone de Niakhar conduit en 2002 et 2003, une baisse très importante de la prévalence du retard de croissance staturale a été observée dans les deux groupes d'intervention (traités et placebo). L'importance de la diminution (près de 50%) mais aussi sa rapidité (15 mois) rendent ce résultat très inattendu.

Le traitement préventif intermittent administré n'est pas responsable de la diminution de la prévalence de retard de croissance en taille puisque celle-ci a été observée à la fois chez les enfants ayant reçu le TPI et chez les enfants ayant reçu le placebo.

Ce résultat sous-tend l'hypothèse que l'amélioration du statut en taille des enfants serait liée à la prise en charge active et rapide des crises et des suspicions de crises palustres dont ont bénéficié tous les enfants inclus dans l'essai TPI.

Cette hypothèse s'avère difficile à vérifier car n'ayant pas été envisagée lors de la conception de l'étude, aucun groupe contrôle « hors intervention » n'a été défini *a priori* afin d'observer l'impact de la prise en charge de la morbidité palustre apportée par l'essai.

De plus, d'un point de vue éthique, il n'est pas acceptable d'inclure des enfants dans une étude, même au titre de groupe contrôle, s'ils ne retirent aucun bénéfice direct de leur participation.

Etudier l'hypothèse selon laquelle l'amélioration du statut en taille des enfants est liée à la prise en charge active et rapide de la morbidité palustre nécessite donc de comparer *a posteriori* les enfants inclus dans l'essai TPI à des enfants « contrôles » non-inclus dans cet essai.

Suite à l'efficacité démontrée du traitement préventif intermittent, un nouvel essai fut conduit dans la zone de Niakhar en 2004, neuf mois après l'arrêt de l'essai TPI de 2002. Ce nouvel essai clinique a été mis en place afin de tester l'efficacité de quatre combinaisons thérapeutiques utilisées dans le cadre du TPI saisonnier (Sokhna *et al.*, 2008). Cette intervention a été conduite dans 14 villages de la zone, incluant les 11 villages précédemment sélectionnés pour l'essai TPI de 2002. Un total de 2102 enfants âgés de 6 à 59 mois était éligible pour cette intervention, représentant la totalité des enfants de cet âge vivant dans les villages. Au final, 2020 enfants furent inclus et randomisés en quatre groupes correspondant à chacune des combinaisons

thérapeutiques (SP+ 1AS (Sulfadoxine Pyriméthamine + Artésunate) ou SP+3AS ou SP+3AQ (Amodiaquine) ou 3AS+3AQ). Une enquête anthropométrique a été réalisée en septembre 2004 lors de l'inclusion des enfants dans l'intervention.

Parmi les 2020 enfants inclus en septembre 2004, 1452 enfants vivaient dans les 11 villages sélectionnés pour l'essai TPI en 2002-2003 et 501 d'entre eux avaient été inclus en 2002 (cf figure 11).

Cette étude conduite en septembre 2004, neuf mois après l'arrêt de l'intervention TPI permet alors de comparer les enfants inclus en 2002-2003 (= enfants « exposés » à l'essai 2002-2003) à des enfants des mêmes villages et du même âge mais qui n'ont pas été inclus dans l'essai de 2002-2003 (=enfants « non-exposés »).

Ainsi, il est possible d'observer si le statut en taille des enfants ayant bénéficié d'une détection active et d'un traitement rapide des crises et des suspicions palustres lors de l'essai TPI 2002-2003 est supérieur à celui d'enfants n'ayant pas bénéficié d'une telle prise en charge.

Toutefois, cette comparaison repose sur l'hypothèse que l'état nutritionnel des enfants non inclus dans l'essai TPI en 2002 était initialement comparable à celui des enfants qui ont été inclus.

En 2002, les enfants inclus dans l'essai ont été sélectionnés par tirage au sort au sein des villages à partir de la base de données démographiques. Les enfants inclus représentaient alors environ 50% de la population éligible (Cissé *et al.*, 2006).

En septembre 2004, les enfants inclus représentaient la quasi-totalité des enfants des villages.

Par conséquent, cette sélection des enfants en 2002 et en 2004 assure une comparabilité entre les deux groupes d'enfants « exposés » et « non- exposés ».

Par ailleurs, la comparaison *a posteriori* des deux groupes d'enfants suppose également que, si une différence de taille entre les deux groupes existait à la fin de l'essai TPI en décembre 2003, celle-ci persiste encore septembre 2004. Cette supposition est appuyée par la stabilité de la prévalence du retard de croissance staturale dans la zone (www.who.int/nutgrowthdb/database/countries/sen/en/). Il est donc peu probable que le statut en taille des 2 groupes d'enfants évolue brutalement en neuf mois en l'absence de toute intervention.

Les 501 enfants ayant participé à l'essai TPI en 2002 sont âgés entre deux et cinq ans en septembre 2004. Ainsi, parmi les 953 enfants inclus en septembre 2004 mais non en 2002, seuls ceux âgés entre deux et cinq ans (n=428) sont inclus dans le groupe « non-exposés » (figure 11).

La diminution du retard de croissance à la fin de l'essai TPI 2002 ayant été observée chez tous les enfants pour toutes les classes d'âge (Ntab *et al.*, 2007), cela suppose que l'effet de la prise en charge des crises et des suspicions de crises palustres sur le statut en taille

peut être mis en évidence même si l'échantillon est réduit aux enfants ayant entre deux et cinq ans (i.e. âgés de 2 à 36 mois à l'inclusion dans l'essai en septembre 2002).

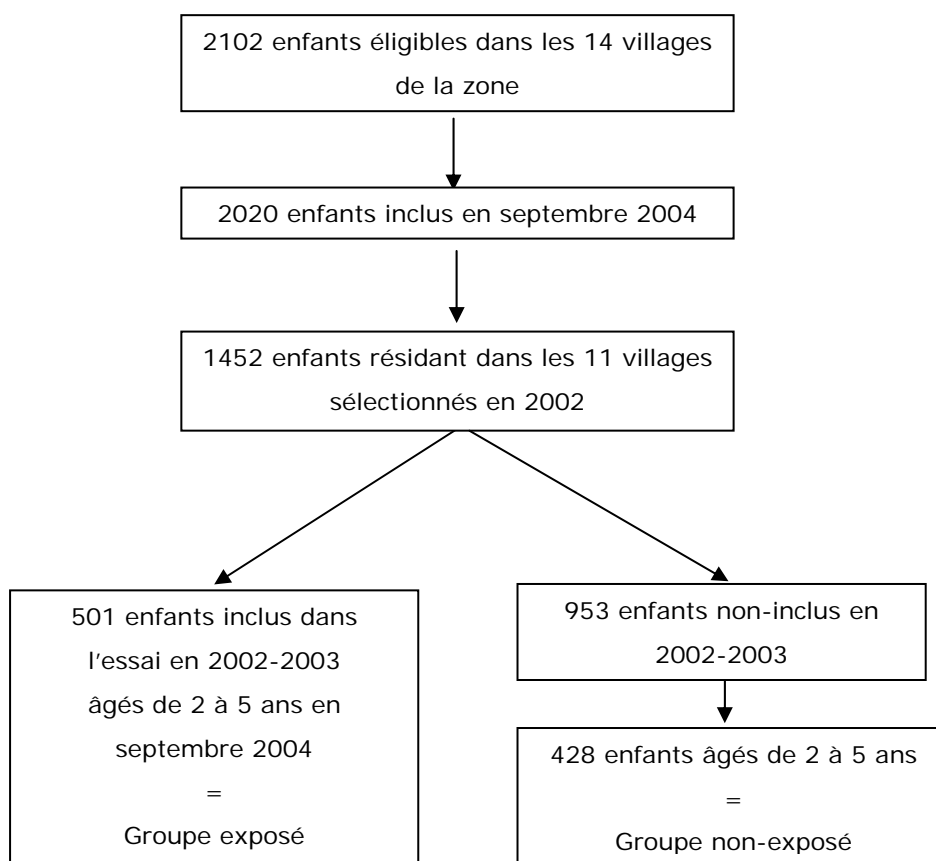


Figure 11: Sélection des enfants inclus dans l'analyse

L'objectif de l'analyse présentée ci-après est donc de comparer le statut en taille d'enfants âgés de deux à cinq ans « exposés » à la prise en charge de la morbidité palustre (n=501) lors des deux saisons de transmission précédentes à celui d'enfants résidant dans les mêmes villages mais « non-exposés » à cette prise en charge (n=428).

Ces travaux ont fait l'objet d'une soumission pour publication dans la revue Journal of Nutrition (Bethesda, USA).

Impact of active malaria morbidity management on the height status of preschool Senegalese children: a cross-sectional study

Florie Fillol³, Amandine Cournil³, Cécile Cames⁴, Cheikh Sokhna⁴, Kirsten Bork Simondon³

³Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France; ⁴Institut de Recherche pour le Développement, Dakar, Senegal;

To whom correspondence should be addressed. Florie Fillol, IRD, UMR145, « VIH et maladies associées », 911 avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier, France, Tel : +33 (0)4 67 41 61 48, Fax : +33 (0)4 67 41 63 30, florie.fillol@ird.fr.

Word count: 4398

Number of tables: 3

Running title: Stunting and active malaria morbidity management

¹ Supported by grants from the Institut de Recherche pour le Développement, Florie Fillol is supported by a scholarship from the French Ministry of Research.

² Author disclosures: F. Fillol, C. Cames, A. Cournil, C. Sokhna, K. B. Simondon: no conflicts of interest.

Abstract

Although infections contribute to growth faltering in preschool children, malaria prevention seems to have limited impact on height status. In 2002-2003, a malaria intermittent preventive treatment (IPT) trial was conducted in central Senegal, including randomly selected preschool children from 11 villages. A rapid decrease in stunting prevalence (from 28.3 to 16.3%, $P < 0.0001$) was reported in both intervention and placebo groups. During this 15-month-period, both groups of children benefited from active detection and prompt treatment of malaria attacks. The present study aimed to investigate whether this management of malaria morbidity could explain the rapid improvement of children's height status. An anthropometric survey, conducted in September 2004 in the IPT trial area, included 929 2-5-year-old children. Among them, 501 children, previously included in the 2002-2003 IPT trial, had benefited from active malaria morbidity management and formed the "malaria trial group". The remaining 428 children constituted the control group. Mean height-for-age Z-Scores and stunting prevalence in September 2004 were compared between groups. Children in the malaria trial group did not have significantly higher mean HAZ or lower stunting prevalence compared to controls (-1.16 ± 0.93 vs. -1.25 ± 1.00 , $P = 0.13$, and 18.2 vs. 20.8%, $P = 0.31$, for HAZ and stunting, respectively).

Compared to the usually slow progression of height status related to better living conditions, it seems very likely that the rapid improvement observed among IPT study children results from the trial. The present findings suggest that improved health services provided by the trial may also have benefited non-included children living in study villages.

Introduction

Stunting remains highly prevalent in developing countries, and affects 38% of children under five years of age in sub-Saharan Africa (1). Growth faltering is known to be a major cause of impaired cognitive development, decreased school performance and, later, reduced physical work capacity and reproductive outcome (2).

Among multiple risk factors associated with stunting, infections strongly participate in growth faltering. Indeed, acute and chronic infections may affect linear growth by decreasing food intake and nutrient absorption and increasing metabolic requirements (3). Numerous studies have investigated the impact of malaria prevention on childhood nutritional status. It has been widely demonstrated that malaria prevention improves the weight gain of children living in malaria endemic areas (4-7); however, few trials have shown a significant effect on linear growth (8, 9).

In 2002, a randomized double-blind placebo-controlled intervention study of seasonal intermittent preventive treatment (IPT) of malaria was conducted in a cohort of 2-59-month-old children living in a rural area of Senegal where transmission is mainly seasonal. The intervention was highly successful: the risk of a clinical attack was reduced by 86% (10). The prevalence of wasting increased significantly in the control group during the transmission season, but remained constant in intervention children (11). In addition, an unexpected 42% decrease in stunting was observed in both groups during follow-up: from 28.3% (95% CI: 25.6-31.0) at inclusion to 16.3% (95% CI: 13.9-18.7) some fifteen months later, at the end of the intervention ($P < 0,0001$). The main hypothesis to explain this result was that this dramatic decrease did not result from the intervention per se (in that case it would have benefited the intervention group only), but rather from malaria morbidity management provided to all children during the study. Indeed, all children included in this trial benefited from active weekly malaria case detection and prompt treatment during two consecutive transmission seasons.

In order to test this hypothesis, a cross-sectional anthropometric survey, conducted in September 2004, allowed for the comparison of height-for-age of children who had taken part in the 2002-03 IPT study to that of a control group of children who had not participated in any interventions. These two groups were comparable due to random selection of ITP study children within the 11 study villages. We hypothesized that children who had benefited from malaria morbidity management would display a better height status (higher mean height-for-age and lower prevalence of stunting) compared to children who had not received such health care.

Materials and Methods

Study area and population. The study was conducted in an area close to Niakhar, a rural district of Senegal located 150 km from the capital city Dakar. The area contains thirty villages within 230 km². Since 1983, a demographic surveillance system has been operating in the area, and dates of birth and death are known with accuracy for all inhabitants. The mortality rate for children aged 1-4 years was 144 per 1000 live-births from 1994-1999 (12), and malaria accounted for one-fourth of all deaths in this age group (13). *Plasmodium falciparum* malaria transmission occurs from August to October, and preschool death rates increase sharply at that time of the year (12, 14).

The nutritional status of infants and preschool children also varies strongly by season. Body weight is highest in the dry season (April–May) and lowest at the end of the rainy season (October–November) (12).

2002-2003 IPT trial. A randomized double-blind placebo-controlled intermittent preventive anti-malarial treatment trial was conducted in 2002 and 2003 in this area. Details on this intervention have been provided previously (10). In brief, in 2002, an intermittent preventive anti-malarial treatment trial (IPT) was conducted in 11 villages including 1,088 children aged 2-59 months in September 2002 (10). Artesunate (AS) and sulfadoxine-pyrimethamine (SP) or matching placebo were given monthly three times at the height of the rainy season during the first year of the trial (from mid-September to mid-November). During the 2003 transmission season, an observational follow-up study evaluated the potential rebound effect of the intervention, i.e. the risk of a higher clinical attack rate in former intervention children. Thus, no chemoprevention was provided during the follow-up, but all children included in this trial benefited from weekly active malaria case detection from July to December (through home visits by medical staff). Children ill with malaria received prompt treatment: in 2002, chloroquine as first-line treatment and SP or quinine as second-line treatment, and in 2003 SP as first-line treatment and quinine as second-line treatment; at all times, injectable quinine was administered in case of persistent vomiting or severe malaria). In 2002, children received an anti-malaria treatment immediately after a malaria attack was confirmed biologically (parasitaemia > 3000 parasites per μL), whereas in 2003, all children with symptoms evocative of malaria attack were treated prior to parasitological confirmation. Furthermore, passive surveillance was operating at two dispensaries in the area; in addition to the nurse in-charge, a physician was appointed by the research project for the investigation of all children who presented with symptoms evocative of malaria. Treatment was identical to that of cases identified through active surveillance. There was no evidence of any rebound effect in 2003; indeed, former intervention children did not have higher rates of clinical attacks compared to placebo children (incidence ratio: 0.98 (0.82; 1.17), (10).

During the study, four anthropometric surveys were conducted (September and November 2002, July and December 2003) (11).

2004 IPT trial. An additional trial was conducted from September 2004 to December 2004 in 14 villages, including the 11 villages involved in the 2002-2003 IPT trial (15). This trial included a total of 2,020 children aged from 6 to 59 months, who were randomly allocated to four different IPT regimens. A baseline survey was conducted at inclusion in September 2004 for the collection of anthropometric data.

Study design. The present study was set up as a comparison of height-for-age and stunting in September 2004 between children exposed vs. not exposed to health interventions (active malaria attack detection and prompt treatment) within the 2002-03 malaria prevention trial.

Subjects. Criteria for inclusion in the present analysis were an age between 26 and 59 months in September 2004 and residence in one of the 11 villages included in the 2002-03 IPT trial.

Exclusion criteria consisted of refusal to participate and the presence of a detectable handicap which might alter linear growth.

Among the 2,020 children aged 6-59 months enrolled in the intervention in September 2004, 1,452 lived in the eleven IPT villages. Among them, 501 children (aged 26-59 months) had previously been included in the 2002-2003 IPT trial and were included in the “malaria trial group”. Among the 951 remaining children, 428 were aged 26-59 months in September 2004 (i.e. aged from 2-36 months in September 2002) and were included in the control group.

Oral, witnessed, informed consent of parents was sought at home visits prior to anthropometric assessment.

Data collection. In September 2004, anthropometric data were collected in two health centers by well trained and experienced measurers in accordance with internationally recommended procedures (16). Weight was measured using an electronic scale to the nearest 10 g (SECA, France). Standing height of children was measured using locally-made wooden boards precise to the nearest millimetre. Height measurements were taken twice and the average used for the analysis. Anthropometric data from IPT 2002/2003 and 2004 were collected in the same manner, by the same two anthropometrists. Socio-demographic data (the child’s date of birth, village of residence and maternal occupation and education) were taken from the Niakhar study area database.

Statistical analysis. The nutritional indicators height-for-age (HAZ), weight-for-height (WHZ) and weight-for-age (WAZ) were computed in Z-Scores of the WHO 2006 child growth standards using SAS software Version 8.2. Stunting, wasting and underweight were defined for values below -2 for HAZ, WHZ and WAZ, respectively.

Sociodemographic and anthropometric characteristics were compared between the malaria trial and control groups using t-tests for quantitative variables and chi-square tests for qualitative variables. In order to test whether height status varied with age within each study group, analyses of variance and logistic regressions were used for HAZ and stunting, respectively. Mean HAZ was compared between malaria trial and control groups with adjustment for age group using a general linear model. Comparison of stunting between the two groups with adjustment for age was performed using a multiple logistic regression. Interaction between study group and group of age was tested for both models in order to test whether child age was an effect modifier in the relationship between study group and height status.

Ethics. The study protocol was approved by the ethical review committees of the Senegalese Ministry of Health and the Institut de Recherche pour le Développement (IRD).

Results

As expected from the randomized design, there were no significant differences between children included in the malaria trial group and those included in the control group in terms of age, sex or maternal characteristics (Table 1).

Mean HAZ tended to be higher in the malaria trial group compared to the control group (-1.16 vs. -1.25, $P=0.13$), however, none of the three nutritional indicators differed significantly between groups, and prevalence of malnutrition was similar as well (Table 1).

Mean HAZ and stunting prevalence differed significantly with age within the control group ($P<0.01$): the highest mean HAZ values and lowest stunting prevalence were found in the oldest age group (48-59.9 months, Table 2). No differences with age were noted in the malaria trial group. Among 36-47.9 month-old children only, mean HAZ tended to be higher - and the prevalence of stunting lower - in the malaria trial group compared to the control group.

When adjusting for age in a multivariate analysis, mean HAZ did not differ significantly between malaria trial and control children ($\beta = -0.09$, $P=0.13$, Table 2). Similar results were found for prevalence of stunting ($OR_{\text{malaria trial vs control}} = 1.18$, 95% CI [0.79; 1.85], $P = 0.31$).

Addition of an interaction term between age and study groups (malaria trial versus control) in the multivariate models allowed for testing whether the impact of malaria morbidity management differed according to age, as suggested by bivariate analyses described above. Interaction terms between intervention group and age were not significant for either mean HAZ or the prevalence of stunting ($P = 0.16$ and $P = 0.08$, respectively).

Table 1. Comparison of sociodemographic and anthropometric characteristics between the 2002-03 malaria trial and control groups, 9 months after the end of the trial (in September 2004).

Characteristics	Malaria trial group n=501	Control group n=428	P ^a
Child's age (months)			
24-35.9	29.5 (148)	35.1 (152)	0.14
36-47.9	36.2 (183)	35.1 (148)	
48-59.9	34.3 (170)	29.8 (128)	
Sex			
Female	51.5 (258)	52.3 (224)	0.80
Male	48.5 (243)	47.7 (204)	
Maternal characteristics			
Mother's instruction ^b	18.2 (91)	18.9 (81)	0.77
Mother's activity ^c	12.6 (63)	15.7 (67)	0.18
Nutritional status			
Height-for-age (Z-Score)	-1.16 ±0.93	-1.25 ±1.00	0.13
Weight-for-height (Z-Score)	-0.36 ±1.02	-0.30 ±0.99	0.37
Weight-for-age (Z-Score)	-0.91 ±0.91	-0.92 ±0.91	0.86
Prevalence of malnutrition			
Stunting (%)	18.2 (91)	20.8 (89)	0.31
Wasting (%)	6.0 (30)	4.8 (20)	0.38
Underweight (%)	11.0 (55)	10.8 (46)	0.91

Values are means ± SD for quantitative variables and % (no) for qualitative variables

^a P-value for between-group comparisons

^b Percentage of mothers who ever attended primary school

^c Percentage of mothers with a professional activity

Table 2: Mean HAZ and stunting prevalence in children included in the malaria trial group vs. those of control children according to groups of age.

	Malaria trial children	Control children	P ^c
n	501	428	
Height-for-age Z-Score ^a			
Child age (months)			
24-35.9	-1.16 ±0.98	-1.22 ±0.94	
36-47.9	-1.19 ±0.91	-1.44 ±1.10	0.13
48-59.9	-1.12 ±0.92	-1.07 ±0.93	
P ^d	0.77	0.009	
Stunting prevalence ^b			
Child age (months)			
24-35.9	18.2 (27/148)	19.1 (29/152)	
36-47.9	18.6 (34/183)	29.1 (43/148)	0.31
48-59.9	17.7 (30/170)	13.3 (17/148)	
P ^d	0.97	0.005	

^a Values are mean±SD

^b Values are % (no of stunted children / no of children in each age group)

^c P-value for comparison between malaria trial children and control children with adjustment for groups of age

^d P-value for comparison among groups of age

Discussion

The present study sought to determine whether malaria morbidity management might be an explanation for the impressive 42% decrease in prevalence of stunting (from 28.3 to 16.3%) observed in both placebo and malaria-preventively-treated children at the end of the 2002-2003 IPT study (11). Indeed, all children included in this study benefited from weekly active malaria case detection by home visits and prompt treatment. Children who have benefited from active malaria management morbidity during the IPT intervention were compared to control children, living in the same villages, who did not receive such health care.

We found no significant difference in height status (mean HAZ or stunting prevalence) between children who had benefited from active malaria morbidity management during the IPT intervention (the malaria trial group) and control children. Thus, our hypothesis of a role of active malaria morbidity management for explaining the improvement in height status of IPT children was not confirmed by this analysis.

The major limitation of the study is the lack of information concerning baseline nutritional status of control children. The 2002-2003 IPT study was based entirely on a comparison between children benefitting from malaria prevention treatment and placebo children. Therefore, the present study relies on the assumption that the two groups had similar nutritional status at baseline; i.e. at the beginning of the 2002-IPT study. This seems highly

plausible, since the 2002-IPT intervention was conducted among a randomly selected group of children within the 11 study villages (10).

However, a slight deviation from the randomized design was accepted for this analysis. Indeed, a few children (n=38) who had been selected for the intervention but whose parents had refused participation were included in the “non-trial” group of this study. However, these children did not differ from IPT children and excluding them from the control group – or including them in the malaria trial group (an ‘intention to treat’ analysis) - did not change the results of the analysis (results not shown).

Thus, our findings showed no difference in the prevalence of stunting between malaria trial and control groups in September 2004. Therefore, we hypothesize that the control group has experienced an important decrease in stunting from 2002 to 2004, similar to that of the malaria trial group.

We have compared our results to data of mean HAZ in central Senegal and Fatick (the region in which the Niakhar study area is located) provided by the Senegalese Demographic and Health Surveys (DHS) and the Multiple Indicators Cluster Surveys (MCIS). These data indicate that the mean HAZ of preschool children increased from -1.56 (SD: 1.69) in 1992 (EDS-II 1992/1993) to -1.35 (SD: 1.79) in 2000 (MICS-II-2000), and -1.01 (SD: 1.30) in 2005 (EDS-IV, 2005). These increases were highly significant (P=0.008 and P=0.004, for the two periods, respectively).

Thus, a marked increase in height status of preschool children occurred in the region between 2000 and 2005, and also in the country globally (data not shown). This improvement of height status was probably related to better socioeconomic conditions. Indeed, data from the World Bank shows an increase in Gross National Income per capita from 510 dollars in 2000 to 750 dollars in 2006 (17, 18). Thus, an improvement of living conditions in the Niakhar area might partly explain the decrease in stunting observed among preschool children during the IPT intervention.

Among recent economic changes in the study area, one might cite improved techniques of cattle raising (using cattle imported from Europe instead of the traditional humped ox, Amady Ndiaye, personal communication).

Specific nutrition programs for 6-35-month-old children and pregnant women have been carried out in Senegal, first in urban and thereafter also in rural areas, and might theoretically have contributed to this reduction of malnutrition. However, they don't seem to have had any impact on stunting prevalence as compared to control areas (19). Furthermore, these programs have never been operating in the Niakhar area (Dr. Abdoulaye Ka, personal communication). For 2003, we have data for 12-59-month-old children only. With regards to change in mean HAZ or stunting prevalence from 1984 (based on the original data of a study by Garenne et al

(20)) to 2009 among 12-59-month-old children living in the 11 study villages (Table 3), the impressive increase in mean HAZ during the IPT trial occurred very rapidly, over a fifteen-month period. Moreover, the comparison of mean HAZ of 12-59-month-old children between 2004 and 2009, suggested that children's height status worsened during this five-year period (P=0.03) and that the improvement in height status from 2002 to 2003 was a temporary phenomenon.

Table 3: Change in mean HAZ and stunting prevalence of 12-59-month-old children living in the 11 study villages using the WHO 2006 international growth standard

	1984 ^a	2002	2003	2004	2009
n	1274	864	688	1299	1297
Height-for-age Z-Scores ^b	-1.49±1.2	-1.54±1.1	-1.15±1.00	-1.22±1.05	-1.31±1.07
P (two samples t-tests)	0.32	<0.0001	0.14	0.03	
Stunting (HAZ<-2) ^c	31.2	31.4	18.8	20.1	24.7
P (two samples chi-square tests)	0.96	<0.0001	0.51	0.006	

^a Computed from the original data of the study conducted by Garenne and co-authors (20)

^b Values are means±SD

^c Values are %

Improvement of height status associated with better socioeconomic conditions has been described as a slow and regular process spanning over several years (21-23). Therefore, the secular trend or the overall improvement of living conditions in the area suggested by EDS data may have contributed to the decrease in stunting prevalence observed between September 2002 and December 2003 in IPT children, however it is unlikely to entirely explain this dramatic decrease. Others mechanisms must be involved. The implementation of the IPT intervention seems to be the most likely cause. Our hypothesis is that although they did not benefit from active malaria detection, control children benefited from several medical services implemented in the villages during the trial, notably through treatment free of charge by well-qualified physicians present at dispensaries 7 days a week, for malaria attacks and other diseases as well. In addition, long-term presence of health workers and medical doctors in the villages during rounds for active malaria surveillance may have promoted better health care for the population as a whole, and in particular for children. This phenomenon has been described previously (24).

Since the IPT trial provided general health and medical services, not focusing on malaria morbidity only, the intervention could also result in mothers' awareness of their children's health. Consequently, changes in mothers' behaviour associated with better health facilities

free of charge might have improved the general morbidity management in study villages and contributed to this important decrease in the prevalence of stunting.

In conclusion, the present study did not confirm our study hypothesis of a specific role of active malaria morbidity management for the improvement of height status in IPT-included children. However, medical services, improved health facilities and the long-term presence of health workers and medical doctors in the villages during the IPT trial seem the most likely causes of the rapid decrease in stunting prevalence observed during the 15-month-period of the IPT trial. The present findings suggest that health services associated with the implementation of the IPT study have benefited both included and non-included children in study villages.

Author's contributions to the manuscript

FF, AC, KBS designed research

CC, CS provided essential materials

FF, AC performed statistical analyses

FF, AC, KBS wrote the paper

FF had primary responsibility for final content

Literature cited

1. Unicef WHO. Progress for Children: A World Fit for Children statistical review; 2007 Dec.
2. Eveleth P. Nutritional implications of differences in adolescent growth and maturation and in adult body size. In: Blaxter K, Waterlow J, editors. Nutritional Adaptation in Man. John Libbey ed. London; 1985. p. 31-43.
3. Stephensen CB. Burden of infection on growth failure. *J Nutr.* 1999 Feb;129:534S-8S.
4. Shiff C, Checkley W, Winch P, Premji Z, Minjas J, Lubega P. Changes in weight gain and anaemia attributable to malaria in Tanzanian children living under holoendemic conditions. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1996 May-Jun;90:262-5.
5. Snow RW, Molyneux CS, Njeru EK, Omumbo J, Nevill CG, Muniu E, Marsh K. The effects of malaria control on nutritional status in infancy. *Acta Trop.* 1997 Apr 30;65:1-10. doi: S0001706X96006018
6. ter Kuile FO, Terlouw DJ, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Friedman JF, Kolczak MS, Kariuki SK, Shi YP, Kwena AM, et al. Impact of permethrin-treated bed nets on malaria and all-cause morbidity in young children in an area of intense perennial malaria transmission in

- western Kenya: cross-sectional survey. *Am J Trop Med Hyg.* 2003 Apr;68:100-7.
7. D'Alessandro U, Olaleye BO, McGuire W, Langerock P, Bennett S, Aikins MK, Thomson MC, Cham MK, Cham BA, Greenwood BM. Mortality and morbidity from malaria in Gambian children after introduction of an impregnated bednet programme. *Lancet.* 1995 Feb 25;345:479-83.
 8. Bradley-Moore AM, Greenwood BM, Bradley AK, Kirkwood BR, Gilles HM. Malaria chemoprophylaxis with chloroquine in young Nigerian children. III. Its effect on nutrition. *Ann Trop Med Parasitol.* 1985 Dec;79:575-84.
 9. ter Kuile FO, Terlouw DJ, Kariuki SK, Phillips-Howard PA, Mirel LB, Hawley WA, Friedman JF, Shi YP, Kolczak MS, et al. Impact of permethrin-treated bed nets on malaria, anemia, and growth in infants in an area of intense perennial malaria transmission in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 2003 Apr;68:68-77.
 10. Cisse B, Sokhna C, Boulanger D, Milet J, Ba el H, Richardson K, Hallett R, Sutherland C, Simondon K, et al. Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial. *Lancet.* 2006 Feb 25;367:659-67. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68264-0
 11. Ntab B, Cisse B, Boulanger D, Sokhna C, Targett G, Lines J, Alexander N, Trape JF, Simondon F, et al. Impact of intermittent preventive anti-malarial treatment on the growth and nutritional status of preschool children in rural Senegal (west Africa). *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Sep;77:411-7. doi: 77/3/411
 12. Delaunay V, Etard JF, Preziosi MP, Marra A, Simondon F. Decline of infant and child mortality rates in rural Senegal over a 37-year period (1963-1999). *Int J Epidemiol.* 2001 Dec;30:1286-93; discussion 94-5.
 13. Etard JF, Le Hesran JY, Diallo A, Diallo JP, Ndiaye JL, Delaunay V. Childhood mortality and probable causes of death using verbal autopsy in Niakhar, Senegal, 1989-2000. *Int J Epidemiol.* 2004 Dec;33:1286-92. doi: 10.1093/ije/dyh259
 14. Simondon KB, Bénéfice E, Simondon F, Delaunay V, Chahnazarian A. Seasonal variations in nutritional status of adults and children in rural Senegal. In: Ulijaszek SJ, Strickland SS, editors. *Seasonality and human ecology.* Cambridge: Cambridge University Press; 1993. p. 166-83.

15. Sokhna C, Cisse B, Ba el H, Milligan P, Hallett R, Sutherland C, Gaye O, Boulanger D, Simondon K, et al. A trial of the efficacy, safety and impact on drug resistance of four drug regimens for seasonal intermittent preventive treatment for malaria in Senegalese children. *PLoS One*. 2008;3:e1471. doi: 10.1371/journal.pone.0001471
16. Lohman T, Roche A, R M. *Anthropometric Standardisation Reference Manual*. Champaign, IL: Human Kinetics Book; 1988.
17. World Bank. *World Development Report: Entering the 21th century*; 2000.
18. World Bank. *World Development Report: Agriculture for Development*; 2008.
19. Gartner A, Kameli Y, Traissac P, Dhur A, Delpeuch F, Maire B. Has the first implementation phase of the Community Nutrition Project in urban Senegal had an impact? *Nutrition*. 2007 Mar;23:219-28. doi: 10.1016/j.nut.2006.12.004
20. Garenne M, Maire B, Fontaine O, Briend A. Distributions of mortality risk attributable to low nutritional status in Niakhar, Senegal. *J Nutr*. 2006 Nov;136:2893-900. doi: 10.1093/ajph/136/11/2893 [pii]
21. de Onis M, Frongillo EA, Blossner M. Is malnutrition declining? An analysis of changes in levels of child malnutrition since 1980. *Bull World Health Organ*. 2000;78:1222-33.
22. Johnston F. Social and economic influences on growth and secular trends. In: Blaxter K, Waterlow J, editors. *Human growth and development*. John Libbey ed. London; 2002. p. 31-43.
23. Milman A, Frongillo EA, de Onis M, Hwang JY. Differential improvement among countries in child stunting is associated with long-term development and specific interventions. *J Nutr*. 2005 Jun;135:1415-22. doi: 10.1093/ajph/135/6/1415
24. Velema JP, Alihonou EM, Gandaho T, Hounye FH. Childhood mortality among users and non-users of primary health care in a rural west African community. *Int J Epidemiol*. 1991 Jun;20:474-9.

2.2 Résumé et discussion de l'étude

L'objectif principal de cette analyse était de mettre en évidence l'effet de la détection active et du traitement rapide des crises et suspicions palustres sur l'amélioration du statut en taille des enfants.

Pour cela, le statut en taille de 501 enfants âgés de 2 à 5 ans ayant bénéficiés d'une telle prise en charge pendant deux saisons de transmission (enfants « exposés ») a été comparé à celui de 428 enfants vivant dans les mêmes villages mais n'ayant pas bénéficié de cette prise en charge (enfants « non-exposés »).

L'indice taille/âge apparaît légèrement plus élevé chez les enfants « exposés » ($HAZ = -1,16 \pm 0,93$) que chez les enfants « non-exposés » ($HAZ = -1,25 \pm 1,00$). La prévalence du retard de croissance en taille est, par conséquent, plus faible chez les enfants ayant bénéficié de la prise en charge des crises et des suspicions palustres (18,2 vs 20,8%). Toutefois, ces différences ne sont pas significatives ($p = 0,13$ et $p = 0,31$ respectivement).

Ces résultats ne confirment donc pas notre hypothèse selon laquelle la prise en charge active et le traitement rapide des crises et des suspicions de crises palustres mis en place lors de l'essai TPI en 2002-2003 seraient responsables de la diminution de la prévalence du retard de croissance staturale observée chez les enfants inclus.

Cependant, il est généralement admis que lorsque les enfants continuent de vivre dans l'environnement qui a généré leur retard de croissance staturale, ils améliorent peu leur statut en taille (Martorell *et al.*, 1994). De plus, la diminution de la prévalence du retard de croissance en taille associée à la tendance séculaire ou aux améliorations socio-économiques des conditions de vie nécessite souvent plusieurs années (de Onis *et al.*, 2000; Johnston, 2002; Milman *et al.*, 2005). Il semble donc peu probable que l'importante diminution de la prévalence de retard de croissance staturale observée au cours de l'essai TPI, sur une période de 15 mois, résulte entièrement de l'amélioration des conditions de vie dans la zone de Niakhar.

Il est alors intéressant de connaître l'évolution générale de la croissance en taille des enfants de moins de cinq ans vivant dans cette région du Sénégal pour pouvoir la confronter à ce brusque changement observé dans les 11 villages de l'étude.

Au début des années 1980, l'USAID met en place dans 75 pays des Enquêtes Démographiques et de Santé (EDS) collectant de nombreuses données concernant l'état nutritionnel et permettant d'observer, entre autre, l'évolution du retard de croissance staturale des enfants de moins de cinq ans. L'UNICEF a également mis en place à la fin des années 1990 des enquêtes à indicateurs multiples (MICS - UNICEF) incluant des indicateurs nutritionnels dans le but de suivre la réalisation des Objectifs du Millénaire pour le Développement.

L'ensemble de ces données nous permet de connaître l'évolution de la croissance staturale des enfants de moins de cinq ans vivant dans le centre du Sénégal, et dans la région de Fatick.

Ainsi, les données de ces enquêtes indiquent que l'indice moyen HAZ des enfants de moins de cinq ans vivant dans cette région du Sénégal a augmenté de façon significative de $-1,56 \pm 1,69$ en 1992 (EDS-II 1992/1993) à $-1,35 \pm 1,79$ en 2000 (MICS-II-2000), à $-1,01 \pm 1,30$ en 2005 (EDS-IV, 2005) (OMS, 2004; DHS, 2007).

L'importante augmentation du HAZ, constatée entre 2000 et 2005 dans la région de Fatick, s'explique très probablement par une amélioration des conditions de vie. Cette amélioration globale de la zone pourrait donc, en partie, expliquer l'amélioration de la croissance staturale constatée chez les enfants inclus dans l'étude TPI en 2002.

Cependant, l'importance et la rapidité de cette augmentation du HAZ, observée entre septembre 2002 et décembre 2003, suggèrent la contribution d'autres facteurs. La mise en œuvre de l'essai TPI, associée aux nombreux services médicaux apportés aux enfants, reste néanmoins la cause la plus probable pouvant expliquer cette soudaine amélioration de la croissance en taille des enfants.

Par ailleurs, les résultats de l'analyse, qui n'indiquent aucune différence entre le statut en taille des enfants inclus dans l'essai TPI et celui des enfants non-inclus dans l'essai en 2002, supposent que l'effet de l'intervention TPI sur le statut en taille des enfants ait bénéficié à l'ensemble des enfants des villages participants. En effet, il est possible que la sensibilisation au paludisme des mères des enfants inclus ait pu être communiquée aux autres mères voire à la population entière des villages. D'autre part les enfants des villages ont tous bénéficié de la présence quotidienne dans les postes de santé de médecins qualifiés administrant gratuitement des traitements antipaludéens pendant toute la durée de l'intervention en 2002 et de la surveillance en 2003.

Ainsi, l'intervention TPI semble avoir agi sur certains déterminants responsables de la malnutrition des enfants.

Premièrement, l'essai a permis une amélioration de l'accès aux soins durant toute la durée de l'intervention, donc une amélioration des conditions de santé des enfants.

Par ailleurs, en sensibilisant la mère au paludisme mais également à l'état de santé général de l'enfant, l'essai TPI a pu augmenter l'attention de la mère portée à son enfant. Celle-ci, plus attentive au bien être de l'enfant, a pu alors modifier son comportement, en améliorant, par exemple, l'alimentation donnée à l'enfant.

Bien que nos résultats ne confirment pas le rôle de la détection active et du traitement rapide des crises et des suspicions de crises palustres dans l'explication de la diminution du retard de croissance staturale, il semble qu'au-delà de la prise en charge de la morbidité palustre, l'essai TPI ait eu un impact positif plus général sur la croissance en taille, bénéficiant à l'ensemble des enfants des villages participants.

→ Résultat principal

- L'indice moyen HAZ des enfants ayant bénéficié d'une prise en charge active et rapide de la morbidité palustre n'est pas significativement supérieur à celui d'enfants des mêmes villages mais n'ayant pas bénéficié d'une telle prise en charge.

→ Interprétation

- La détection active et le traitement rapide des crises et des suspicions de crises palustres ne semble pas être responsable de l'amélioration de la croissance en taille des enfants observée entre 2002 et 2003.

→ Hypothèses

- L'essai TPI reste néanmoins la cause la plus probable de la soudaine amélioration du statut en taille des enfants.
- Les services médicaux mis en place lors de l'essai, associés à la sensibilisation des mères à l'état de santé des enfants, ont pu bénéficier à l'ensemble des enfants résidant dans les villages inclus dans l'intervention.

Chapitre 3 : Influence de la malnutrition des enfants en début d'hivernage sur la prédisposition au paludisme

3.1 Présentation de l'étude et des méthodes utilisées

Il est admis, de façon unanime, que la malnutrition augmente fortement le risque de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans et représente la cause sous-jacente d'environ 50% des décès observés chez ces enfants (Caulfield *et al.*, 2004). Cependant, l'influence de la malnutrition sur le risque de crises palustres reste très controversée. Jusqu'à présent, les études à ce sujet ont été conduites en zone de transmission intense du paludisme (holo ou hyper endémique), à l'exception d'une étude menée en Gambie dans une zone de transmission saisonnière hypoendémique.

L'objectif de cette deuxième étude a été d'évaluer, en zone mésoendémique de transmission saisonnière du paludisme, l'impact de la malnutrition des enfants sur la prédisposition au paludisme.

Dans cette étude nous avons donc estimé le risque de survenue d'une crise palustre confirmée au cours de la saison des pluies selon l'état nutritionnel des enfants au début de la saison de transmission. Pour cela nous avons utilisé des modèles multivariés afin de contrôler l'effet des facteurs de confusion possibles dans l'association entre malnutrition et paludisme.

Les données utilisées dans cette étude sont issues de l'intervention TPI décrite précédemment (chapitre 1 de la présente partie) et porte sur les 984 enfants inclus dans l'étude rebond en juillet 2003 et suivis jusqu'en décembre de la même année.

L'intervention TPI présente plusieurs intérêts dans l'étude de l'association entre malnutrition et risque de crise palustre.

D'une part, la morbidité palustre a fait l'objet d'un suivi rapproché en 2002 et 2003. En effet, une équipe médicale passait toutes les semaines au domicile des enfants afin de détecter les crises palustres. De plus, des registres, mis en place dans les dispensaires, permettaient également d'identifier les enfants inclus dans l'étude qui avaient été traités pour une crise palustre par l'équipe médicale du dispensaire. Ce suivi attentif représente un point fort de cette étude en recensant le plus rigoureusement possible toutes les crises de paludisme.

Afin de diagnostiquer une crise palustre lors des passages à domicile, une goutte épaisse était réalisée chez tout enfant présentant des symptômes cliniques évocateurs d'une crise palustre : fièvre ou épisode fébrile ou vomissements dans les dernières 24h. Une crise palustre était confirmée si l'enfant présentait un des symptômes cliniques associé à une parasitémie supérieure à 3000 parasites par μL de sang.

En 2002, les résultats de la goutte épaisse étaient disponibles dans les 2h suivant le prélèvement. Seuls les cas confirmés étaient traités (par de la sulfadoxine-pyriméthamine).

En 2003, toute suspicion de crise palustre (c'est-à-dire présentation de symptômes cliniques + goutte épaisse positive) était immédiatement traitée quelque soit la parasitémie. On parle alors de traitement présomptif, puisque le traitement était donné avant la confirmation de la crise par le comptage des parasites.

Ce point est particulièrement important et nécessite d'être pris en compte dans les analyses. En effet, l'administration d'un traitement antipaludéen à un enfant dont la crise palustre n'est pas confirmée (i.e. parasitémie < 3000 parasites/ μ L) peut être assimilable à de la chimioprophylaxie. L'enfant est alors protégé contre une infection du parasite pendant la durée d'activité thérapeutique de l'antipaludique.

Durant le suivi de l'étude rebond, l'administration du traitement antipaludéen (aussi bien en cas de suspicion que de crise confirmée) a fait l'objet d'une sous-étude randomisée en simple aveugle dont le but était de tester l'efficacité de trois combinaisons thérapeutiques : artesunate + amodiaquine, artesunate + sulfadoxine-pyriméthamine et amodiaquine + amodiaquine. Chacune des trois thérapies contenait au moins une molécule à longue demi-vie. Par conséquent, lorsque le traitement était présomptif (crise non confirmée), son effet prophylactique était similaire quelque soit la combinaison thérapeutique administrée aux enfants. Par ailleurs, aucune différence d'efficacité n'a été reportée concernant l'efficacité de ces trois combinaisons (données non publiées).

Il est donc indispensable de considérer le traitement présomptif comme variable d'ajustement dans cette analyse. En effet, le risque de développer une crise palustre va être différent selon si l'enfant a reçu ou non un traitement présomptif.

Il a amplement été démontré que malnutrition et morbidité palustre varient en fonction de l'âge des enfants. Cette variable, à la fois associée à la malnutrition et au paludisme, apparaît donc comme un facteur de confusion possible qui pourrait modifier l'association entre paludisme et malnutrition. Afin de pouvoir estimer l'influence de la malnutrition sur le risque de morbidité palustre en tenant compte de l'âge des enfants, il est indispensable d'introduire cette variable dans un modèle multivarié.

L'hétérogénéité de l'exposition des enfants au parasite nécessite également d'être introduite dans le modèle. En effet, la transmission du paludisme dans la zone apparaît hétérogène, variant d'un village à un autre (Robert *et al.*, 1998), voire d'un hameau à un autre. Il existe des données entomologiques mesurant l'exposition à *Anopheles gambiae* au niveau des villages. Toutefois, un marqueur individuel d'exposition aurait permis de prendre en compte de façon plus précise l'hétérogénéité de l'exposition au paludisme.

Au sein de l'unité de recherche « Caractérisation et contrôle des populations de vecteurs », l'équipe dirigée par le docteur Franck Remoué, sur le projet Epivect, s'applique actuellement à la validation de protéines salivaires comme biomarqueur immunologique d'exposition individuelle et des populations aux piqûres d'*Anopheles gambiae* (Poinsignon, 2008). L'évaluation quantitative du taux d'anticorps spécifiques

produits en réponse aux protéines salivaires du vecteur de *P. falciparum* pourrait être un moyen d'apprécier l'exposition individuelle aux piqûres de ce vecteur et de ce fait au risque de transmission du parasite.

Cependant, ce biomarqueur immunologique est toujours en cours de validation au niveau individuel et n'a donc pas pu être inclus comme outil dans cette étude.

Par conséquent, nous ne disposons pas de variable quantitative ou qualitative mesurant cette hétérogénéité.

Toutefois, du point de vue des conditions de vie (proximité du poste de santé, éloignement de la route goudronnée, moyen de transport...) mais également de l'exposition au paludisme, les enfants vivant dans un même hameau, apparaissent plus semblables entre eux que des enfants vivant dans des hameaux différents. Par conséquent, il existe un ensemble de facteurs fluctuant d'un hameau à l'autre (tels que l'exposition au paludisme ou l'historique de cette exposition ou de la morbidité), et qui peuvent faire varier la prédisposition des enfants au paludisme.

Afin de pouvoir introduire l'effet de cet ensemble de facteurs dans notre modèle statistique, nous avons utilisé un modèle statistique mixte.

Ce type de modèle combine des effets fixes, tels que l'âge, le sexe ou le traitement présomptif et des effets aléatoires. Dans notre cas, l'effet aléatoire inclus dans le modèle a été attribué au hameau de résidence des enfants. Le hameau a été choisi comme la plus petite « unité géographique » permettant de définir un groupe d'enfants semblables du point de vue des caractéristiques d'exposition.

Afin d'estimer l'effet de la malnutrition (retard de croissance staturale, émaciation et insuffisance pondérale) en début d'hivernage sur la prédisposition au paludisme nous avons utilisé un modèle mixte non linéaire. L'âge (en classes), le traitement présomptif (variable binaire) et la malnutrition ont été introduits dans le modèle en tant qu'effets fixes. Le hameau de résidence des enfants fut introduit en tant qu'effet aléatoire.

Cette étude a fait l'objet d'une publication dans la revue internationale : « American Journal of Tropical Medicine and Hygiene »

Fillol F, Cournil A, Boulanger D, Cissé B, Sokhna C, Targett G, Trape JF, Simondon F, Greenwood B, Simondon KB:

Influence of wasting and stunting at the onset of the rainy season on subsequent malaria morbidity among rural preschool children in Senegal.

Am J Trop Med Hyg 2009, 80:202-208.

Influence of Wasting and Stunting at the Onset of the Rainy Season on Subsequent Malaria Morbidity among Rural Preschool Children in Senegal

Florie Fillol,* Amandine Cournil, Denis Boulanger, Badara Cissé, Cheikh Sokhna, Geoffrey Targett, Jean-François Trapé, François Simondon, Brian Greenwood, and Kirsten B. Simondon

Epidemiology and Prevention Research Unit, Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France; Department of Parasitology, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Senegal; Tropical Malaria Research Unit, Institut de Recherche pour le Développement, Dakar, Senegal; Department of Infectious and Tropical Disease, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom

Abstract. In sub-Saharan Africa, malaria and malnutrition are major causes of morbidity and mortality in children less than five years of age. To explore the impact of malnutrition on subsequent susceptibility to malaria, a cohort of 874 rural preschool children in Senegal was followed-up during one malaria transmission season from July through December. Data on nutritional status and *Plasmodium falciparum* parasitemia were collected at baseline. Malaria morbidity was monitored through weekly home visits. Wasted children (weight-for-height z-score < -2) were at lower risk of having at least one subsequent clinical malaria attack (odds ratio = 0.33; 95% confidence interval = 0.13–0.81, $P = 0.02$), whereas stunting (height-for-age z-score < -2) or being underweight (weight-for-age z-score < -2) was not associated with clinical malaria. Although non-biological explanations such as overprotection of wasted children by their mothers should be considered, immunomodulation according to nutritional status could explain the lower risk of malaria attack among wasted children.

INTRODUCTION

Malaria and malnutrition are two major causes of childhood mortality in sub-Saharan Africa. Malnutrition is highly prevalent in children less than five years of age living in this area: 38% with stunting (height-for-age z-score < -2 of an international growth reference), 28% are underweight (weight-for-age z-score < -2), and wasting (weight-for-height z-score < -2) affects 9% of these children.¹ It is now widely admitted that malnutrition exposes children less than five years of age to a higher risk of death.^{2–4} *Plasmodium falciparum* infection is another major determinant of childhood mortality: 800,000 preschool children die of malaria each year, and 75% of these deaths occur in children in Africa.^{1,5} Among survivors, malaria infection as well as chronic malnutrition (stunting) can result in impairment of cognitive capacities, school performance and later, in decreased physical work capacity, which has an impact on the economic development of societies.^{6–8}

The relationship between malaria and nutrition has been investigated for many years. Although a number of observations have indicated a deleterious effect of malaria on nutritional status,^{9–11} it is still unclear whether and how nutritional status influences malaria-related morbidity. Although some studies have shown a trend to lower malaria-related morbidity among wasted children, none have reported any significant association between wasting and subsequent clinical malaria.^{12,13} For stunting, results are conflicting. One longitudinal study showed that stunting increased the risk of clinical malaria among rural children in The Gambia,¹² and a trial in Papua New Guinea showed that stunting protected children from *P. falciparum* malaria.¹⁴ Several older studies based on hospital admissions for severe malaria suggested that the condition of being underweight protected children from malaria infection.^{15–17} However, recent community-based studies did not confirm such an association.^{13,18,19} These discrepant results

demonstrate the need for further studies that would include a longitudinal assessment of the relationship between malnutrition and the risk of subsequent malaria morbidity.

In 2002, a randomized, double-blind, placebo-controlled intervention study of seasonal intermittent preventive treatment (IPT) of malaria was conducted in a cohort of 2–59-month-old children living in a rural area of Senegal where transmission is highly seasonal. These children received either one monthly dose of artesunate plus one dose of sulfadoxine-pyrimethamine or two placebos during the three months of the peak malaria transmission season (September, October, and November). The intervention was highly successful: the risk of a malaria clinical attack was reduced by 86%.²⁰

An observational follow-up study was conducted in 2003 with the aim of assessing the risk of a rebound effect after ending IPT; all malaria episodes were closely monitored. The analysis presented in this report was conducted to assess whether childhood malnutrition (stunting, wasting, and underweight) at the beginning of the rainy season was a determinant of susceptibility to clinical malaria in this context of highly seasonal malaria.

MATERIALS AND METHODS

Study design. This study was a longitudinal observational follow-up study without chemoprevention for 25 weeks from mid-July to the end of December 2003.

Study area and population. The study was performed in Niakhar, a rural district of Senegal 150 km from the capital of Dakar. This area contains 30 villages within an area of 230 km². Eleven of these were selected for participation in the trial on the grounds of accessibility, size, and interest.

The rainy season takes place from late June–early July through October. No rivers and few permanent waterholes are found in the area. Consequently, *P. falciparum* malaria transmission occurs from August through October. The average entomologic inoculation rate is 10 infective bites per person per year, and the principal vector is *Anophele gambiae* ss.²¹

Since 1983, demographic surveillance has been maintained in the study area, which provides precise dates of births and deaths.

* Address correspondence to Florie Fillol, Epidémiologie et Prévention, Institut de Recherche pour le Développement, Unité de Recherche 024, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier, France. E-mail: fillol@mpl.ird.fr

The mortality rate for children 1–4 years of age was 144/1,000 live births during 1994–1999.²² Malaria accounts for 25% of all deaths in 1–4-year-old children.²³ The nutritional status of infants and preschool children is largely dependent on season, with the greatest weight-for-height and height-for-age at the end of the dry season (March–May) and lowest averages after the end of the rainy season (October–November).²⁴

Participants. To be included in this study, children had to be enrolled in the IPT trial in 2002. Inclusion criteria have been described.²⁰ A total of 984 children were included in July 2003. Data on anthropometric measurements, hemoglobin status, and *P. falciparum* parasitemia were collected at the inclusion. Children with a hemoglobin concentration < 7 g/dL and children admitted to an *ad hoc* nutrition rehabilitation center were provided malaria prophylaxis upon the recommendation of the Data Safety Monitoring Board. Consequently, they were excluded from the analysis, as were children with incomplete anthropometric data and those absent at the time of the home visit in July 2003. The remaining 874 children were included in the analysis (Figure 1).

Anthropometric measurements. Anthropometric data were collected at health centers by two trained measurers in July

and December 2003, in accordance with internationally recommended procedures.²⁵ Weight measurements were taken using baby scales (Seca, Hamburg, Germany) precise to the nearest 10 g for children weighing < 16 kg, and an electronic scale (Téfal, Paris, France) precise to the nearest 100 g for older children. Recumbent length measurements were taken for children less than two years of age, and standing height was measured beyond that age. Measurements were precise to the nearest millimeter. Height and length measurements were taken twice at each visit and the average was used for analysis. Arm circumference was measured on the left arm. For a value < 12.5 cm or clinical signs of acute malnutrition, the mother was strongly advised to bring the child to the *ad hoc* nutrition rehabilitation center and informed that the child would be treated free of charge. A daily-updated register enabled identification of admitted children including their Institut de Recherche pour le Développement database identification number.

Sociodemographic data (child's age, sex, village and hamlet of residence, maternal age, religion, formal school education, and professional activity) were taken from the Niakhar study area database.

Case detection and management. Malaria morbidity was monitored from mid-July to the end of December 2003 by active surveillance through home visits every week and by passive detection of study children who came to one of the three health centers in the study area. All illnesses suspected to be malaria were recorded and registered by a trained health worker. At each home visit, a blood film was prepared if the axillary temperature was $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$, or if a history of fever or vomiting during the previous 24 hours was reported. Results of the blood film examination were usually available within two hours. Following a recommendation of the Senegalese Ethical Review Committee, children with clinical malaria symptoms and parasitemia at any density were treated with antimalarial drugs. For this treatment, the children were included in a randomized simple blind open study that investigated the efficacy of three antimalarial combinations therapies: artesunate plus amodiaquine (AS plus AQ), artesunate plus sulfadoxine-pyrimethamine (AS plus SP), or sulfadoxine-pyrimethamine plus amodiaquine (SP plus AQ). Thus, all three combinations contained at least one drug with a long half-life. Efficacy did not differ significantly between the three combinations of antimalarial drugs.

Statistical analysis. The nutritional indicators height-for-age (HAZ), weight-for-height (WHZ), and weight-for-age (WAZ) were computed in z-scores of the World Health Organization/National Center for Health Statistics reference by using Epi Info version 6 software (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA). Stunting, wasting, and being underweight were defined for values < -2 for HAZ, WHZ, and WAZ, respectively. At the assessment in July 2003, children were allocated to one of five age strata: 12–23.9, 24–35.9, 36–47.9, 48–60, and > 60 months, respectively.

A clinical malaria attack was defined as an illness with a body temperature $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$, a history of fever or vomiting within the previous 24 hours, or both, with no other obvious cause for fever or vomiting and the presence of *P. falciparum* asexual stage $\geq 3,000$ parasites/ μL . The definition used for the analysis was more stringent than that used to initiate antimalarial treatment so as to increase its specificity (i.e., avoid false-positive results). Malaria attacks were classified binomially as

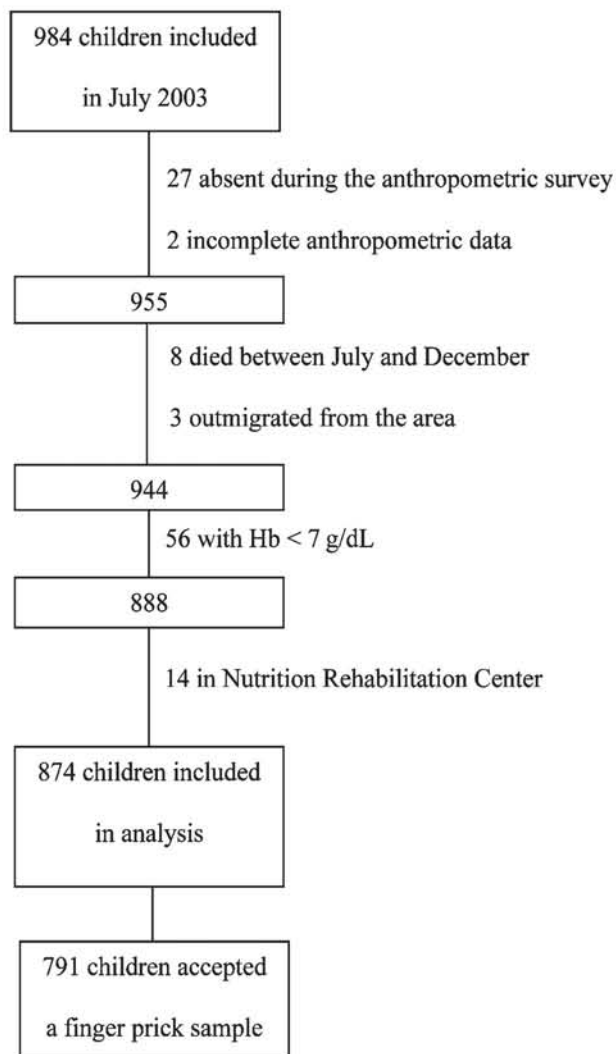


FIGURE 1. Flow chart of the study.

any versus none, i.e., for persons with more than one attack, only the first was considered in the analysis.

Children with parasitemia < 3,000/ μ L at the first fever episode remained in the risk set, although they had received presumptive antimalarial treatment. Consequently, a presumptive treatment variable was created to take into account its effect on their subsequent risk of clinical malaria. The presumptive treatment variable was coded as yes or no. Yes was attributed to children whose first fever episode was not confirmed as a clinical malaria attack. No was attributed to children who did not have any recorded fever episodes during follow-up and to children whose first fever episode corresponded to a clinical malaria attack (because they were withdrawn from the risk set at that time).

Chi-square tests were used to assess the association between the occurrence of at least one clinical malaria episode during the 2003 rainy season and parasitemia in July 2003 with malnutrition indicators and categoric background factors.

Parasite densities were normalized by log-transformation and geometric means, and 95% confidence intervals (CIs) were calculated. A parasitemia threshold was determined as the geometric mean: low-density parasitemia was < 300 parasites/ μ L and high-density parasitemia was above this threshold. The risk of high-density parasitemia by nutritional status was estimated by using a multivariate logistic regression model adjusting for background factors.

Mixed logistic regressions (NLMIXED procedure, SAS version 8.2; SAS Institute, Cary, NC) were used to model the risk of a clinical malaria attack on the basis of the occurrence of malnutrition (stunting, wasting, or being underweight) adjusting for potential confounders and background factors: age (in five groups), sex and presumptive treatment as fixed effects, and place of residence as a random effect. For this analysis, hamlets were introduced as place of residence instead of villages because small geographic units better take into account geographic heterogeneity of malaria exposure.²¹ The best model among different covariance structures was selected using a chi-square test of the difference between the -2 log-likelihood values. Covariates were retained if they were significant at the 5% level. SAS version 8.2 software was used for all analyses.

Ethics. The study protocol was reviewed and approved by the ethical review committees of the Senegalese Ministry of Health and the London School of Hygiene and Tropical Medicine.

RESULTS

In July 2003, the ages of the 874 study children ranged from 12 to 70 months, with a mean of 41.9 months (Table 1). Maternal characteristics (age, occupation, and school education) were not significantly associated with risk of malaria.

Mean anthropometric indicators varied significantly by age ($P < 0.001$, $P < 0.0001$, and $P = 0.03$ for HAZ, WHZ, and WAZ, respectively), but not by sex or village of residence. Children 36–48 months of age had significant lower mean HAZ than younger or older children (Bonferroni's adjustment) whereas mean WHZ and mean WAZ were lowest among children 12–24 months of age. The prevalence of malnutrition (wasting, stunting, and being underweight) at baseline was moderate (Table 1).

Risk of clinical malaria attacks by background factors. Sixty-three percent of children had clinical malaria on at least one

TABLE 1
Characteristics of rural preschool children in Senegal included in the 2003 cohort study*

Characteristic	Value (n = 874)
Child's age (months)	
12–23.9	167 (19.1)
24–35.9	180 (20.6)
36–47.9	180 (20.6)
48–60	192 (22.0)
> 60	155 (17.7)
Mean \pm SD	41.9 \pm 16.8
Sex	
Female	452 (51.7)
Male	422 (48.3)
Village	
1	26 (3.0)
2	85 (9.7)
3	53 (6.1)
4	46 (5.3)
5	73 (8.4)
6	116 (13.3)
7	77 (8.8)
8	143 (16.4)
9	107 (12.2)
10	49 (5.6)
11	99 (11.3)
Nutritional status†	
Height-for-age (z-score)	-1.09 \pm 1.00
Weight-for-age (z-score)	-0.99 \pm 0.92
Weight-for-height (z-score)	-0.40 \pm 0.88
Prevalence of malnutrition‡	
Stunting	165 (18.9)
Underweight	109 (12.5)
Wasting	27 (3.1)
Positive for <i>Plasmodium falciparum</i> ‡	210 (26.5)‡
Clinical malaria attack§	
0	322 (36.8)
1	326 (37.3)
2	168 (19.2)
3	54 (6.2)
4	4 (0.5)
≥ 1	552 (63.2)

* Values are no. (%) or mean \pm SD.

† At inclusion in July 2003.

‡ Data missing for 83 children.

§ From July to December 2003.

occasion during the transmission season (Table 1). The prevalence of clinical malaria varied strongly by age and village ($P < 0.0001$ for both), but not by sex; it was highest among children 24–48 months of age (Table 2). Moreover, considering the effect of presumptive treatment, the risk of clinical malaria attack was significantly lower in children treated for a previous presumptive attack than in children who did not receive presumptive treatment (odds ratio [OR] = 0.26, $P < 0.0001$; Table 2).

Risk of clinical malaria attacks by nutritional status at baseline. The risk of malaria was not significantly greater in stunted children than in their non-stunted counterparts ($P = 0.59$), but it was significantly lower in wasted children than in non-wasted children: less than half of wasted children had one malaria attack compared with almost two-thirds of their non-wasted counterparts ($P = 0.014$; Table 2). Similar results were found for being underweight ($P = 0.04$).

To assess the risk of clinical malaria attack by nutritional status independent of potential confounders, mixed models were run for stunting, wasting, and being underweight separately. Wasting appeared to be independently and significantly

TABLE 2

Prevalence of clinical malaria attacks in rural children in Senegal according to background factors

Variable	≥ 1 Malaria attack (%)	P*
Sex		
Female	65.0	0.23
Male	61.1	
Child's age (months)†		
12–23.9	59.3	< 0.0001
24–35.9	77.2	
36–47.9	69.4	
48–60	56.3	
> 60	52.3	
Village		
1	73.1	< 0.0001
2	29.4	
3	56.6	
4	45.7	
5	53.4	
6	72.4	
7	63.6	
8	76.9	
9	73.8	
10	57.1	
11	68.7	
Presumptive antimalarial treatment prior to first clinical attack (if any)‡		
No§	69.2¶	< 0.0001
Yes#	35.9**	
Malnutrition†		
Stunted	61.2	0.59
Not stunted	63.6	
Wasted	40.7	0.014
Not wasted	63.9	
Underweight	54.1	0.04
Not underweight	64.4	
All	63.2	

* By chi-square test.

† At inclusion in July 2003.

‡ From July through December 2003.

§ No = attributed to children who did not have any recorded fever episodes during follow-up (n = 220) or to children whose first fever episode corresponded to clinical malaria (n = 495).

¶ A total of 495 of the 715 children who did not receive antimalarial presumptive treatment had at least one clinical malaria attack.

Yes = attributed to children who received antimalarial treatment although their first fever episode was not confirmed as a clinical malaria attack (n = 159).

** A total of 57 of the 159 children who received antimalarial presumptive treatment had at least one clinical malaria attack.

associated with clinical malaria, as did age, previous presumptive antimalarial treatment, and place of residence (Table 3). Although the prevalence of wasting was low in July 2003 (i.e., 3.1%), wasted children were at significantly lower risk of having a malaria attack during the following transmission season (OR = 0.33, 95% CI = 0.13–0.81, $P = 0.02$). As expected, presumptive antimalarial treatment was highly protective, decreasing by 85% the probability of having a malaria attack (Table 3). Finally, the random effect of place of residence was significant ($P = 0.003$), indicating spatial heterogeneity of malaria exposure.

In mixed models, stunting and underweight were not significantly associated with the risk of malaria ($P = 0.44$ and $P = 0.07$, respectively). When considering stunting for children less than versus those greater than two years of age separately, results were unchanged.

Prevalence of parasitemia in July 2003. At the onset of surveillance, 26.5% of the children had *P. falciparum* parasitemia (Table 1). We did not observe any significant relationship between nutritional status and the risk of having parasitemia.

TABLE 3

Risk of clinical malaria attack from July to December 2003 in rural children in Senegal according to potential risk factors

	≥ 1 Malaria attack		
	Parameter estimate (SE)	P	Adjusted odds ratio (95% confidence interval)
Fixed effects			
Intercept	0.90 (0.23)	0.0002	–
Wasting (wasted vs. not wasted)	–1.10 (0.45)	0.02	0.33 (0.13–0.81)
Presumptive treatment (treated vs. untreated)	–1.87 (0.22)	< 0.0001	0.15 (0.10–0.24)
Age group (months)	–	–	–
12–23.9	–	–	1.00
24–35.9	0.84 (0.27)	0.003	2.32 (1.34–4.00)
36–47.9	0.43 (0.26)	0.1	1.53 (0.91–2.57)
48–60	–0.25 (0.25)	0.3	0.78 (0.47–1.28)
> 60	–0.46 (0.26)	0.08	0.63 (0.37–1.06)
Random effect			
Place of residence*	0.72 (0.23)	0.003	–

* Hamlet.

Among parasitemic children, the geometric mean of parasitemia was 300 parasites/μL and varied by sex (girls had a lower mean than boys; $P = 0.008$) and village ($P = 0.004$), but not by age. This geometric mean was used as threshold to define high-density parasitemia. In adjusted analyses, wasting or being underweight was not associated with high-density parasitemia (OR = 0.48, 95% CI = 0.04–5.34, $P = 0.55$ and OR = 0.96, 95% CI = 0.35–2.66, $P = 0.94$, respectively), whereas stunted children had a significantly greater risk of being highly parasitemic (OR = 2.42, 95% CI = 1.12–5.24, $P = 0.03$).

DISCUSSION

In this study, we examined the effect of childhood malnutrition, measured at the beginning of the rainy season, upon the risk of subsequent malaria morbidity in an area of mesoendemic and highly seasonal malaria transmission in Senegal. Our results show that wasting (low weight-for-height) was protective against clinical malaria attack in preschool children, whereas stunting or being underweight were not significantly associated with the risk of having clinical malaria.

This study had several strengths. Anthropometric measures were taken by well-trained experienced field workers. Because of the longitudinal study design and active and passive case detection, data collected enabled a complete description of malaria morbidity during the follow-up from mid-July to the end of December 2003.

The low number of wasted children is a limitation to the study. Another limitation is that children who were excluded from the analysis because of low hemoglobin concentration upon recruitment or hospitalization with malnutrition during follow-up had a higher prevalence of stunting and underweight than their included counterparts (50.0% versus 18.9%; $P < 0.0001$; 31.4 versus 12.5%; $P < 0.0001$; and 4.3 versus 3.1%; $P = 0.6$, for stunting, being underweight, and wasting, respectively). To assess the impact of this selection bias, these 70 children were included in additional logistic mixed models (all with the presumptive treatment variable set to 1 because they had benefited from systematic malaria prophylaxis). The association between malnutrition (wasting, stunting, and being underweight) and subsequent clinical malaria morbidity remained unchanged.

We also tested whether the lower risk of clinical malaria among wasted children could be explained by a greater general level of non-specific morbidity, i.e., by repeated clinical symptoms evocative of malaria, such as fever and vomiting, prompting the search for *P. falciparum* carriage and presumptive antimalarial treatment. Among wasted children, 14.8% had received at least one presumptive treatment against malaria for which the diagnosis of clinical malaria was later rejected because of their low parasitemia compared with 18.3% of their non-wasted counterparts ($P = 0.64$). Thus, wasted children did not benefit from more presumptive treatment than other children.

Wasted children were at lower risk of having clinical malaria. We acknowledge that the prevalence of wasting was low (3.1% in July 2003 compared with 7.6% in September 2002). The prevalence of wasting varies strongly by season in this part of Senegal for infants as well as for children ≥ 3 years of age.^{26,27} An anthropometric assessment in September–October would have yielded more wasted children. However, part of this wasting would probably have been an outcome of clinical malaria attacks, thus confronting us with the problem of reverse causality.

To the best of our knowledge, no previously published study has described a significantly lower risk of clinical malaria among wasted children. However, two studies in The Gambia showed trends toward lower malaria-related morbidity among children with low weight-for-height. In their prospective study, Deen and others found that wasted children tended to have less clinical malaria (relative risk [RR] = 0.87, 95% CI = 0.69–1.10).¹² In another Gambian study, 1–4-year-old children who did not have malaria had slightly lower mean weight-for-height at baseline (WHZ = -1.03 versus WHZ = -1.18), although the difference was not statistically significant.¹³

Most other studies dealing with this subject were conducted in areas with intense perennial transmission of malaria. This difference could explain in part the discrepancy in results because acquired immunity and host resistance vary in their pattern of malaria transmission.^{28,29}

With regard to stunting, Deen and others found that chronically malnourished children in The Gambia were at higher risk of having a malaria attack (RR = 1.35, 95% CI = 1.08–1.69).¹² In a study in Papua New Guinea, stunting protected children from *P. falciparum* malaria (one unit increase in HAZ increased *P. falciparum* malaria attacks by 13%).¹⁴ Our findings did not indicate an association between stunting and susceptibility to malaria. However, stunted children were at significantly higher risk of high-density parasitemia at the onset of the rainy season, a finding consistent with the increased risk of high-density parasitemia among children with low height-for-age in Kenya (OR = 1.84, $P < 0.0001$).³⁰

Several hypotheses can be considered to explain the lower risk of clinical malaria among wasted children found in the present analysis. The first hypothesis suggests that the relationship is explained by the mothers' behavior. Studies conducted in this population have shown that mothers are able to correctly evaluate their children's nutritional status and that they attempt to mitigate the negative effects of malnutrition on survival, notably by prolonging the duration of breastfeeding of high-risk children.^{24,31} Thus, it is possible that mothers tend to use preventive measures (chemoprophylaxis, bed nets) more frequently for wasted children.

An alternative, biological hypothesis is that childhood immunity to malaria is modulated by nutritional status. It is now widely recognized that nutrition plays an important role in modulation of anti-pathogen immunity, and numerous studies have shown that micronutrients are significant immunomodulators.^{32,33} Most studies have demonstrated a deleterious effect of malnutrition on the appropriate immune response to infection,^{34,35} but a few have supported the assertion that some micronutrient deficiencies such as that of riboflavin, vitamin E, or iron might, conversely, protect against malaria infection.³⁶

Some evidence is currently considered to support a deleterious effect of iron supplementation in malaria-endemic area when adequate anti-malaria prophylaxis is not associated.³⁷ Several studies have shown that malaria morbidity, in an area of high malaria transmission, was exacerbated when children received iron supplementation.^{38,39} Another trial conducted in Kenya also suggests that iron deficiency might protect children from malaria.⁴⁰ In the present study, hemoglobin concentration was assessed in July 2003 for 864 children. In additional analyses, we have investigated if anemia, as possibly associated with iron deficiency, may act as a confounder in the relationship between wasting and susceptibility to malaria. We did not find any significant association between hemoglobin concentration and wasting or WHZ.

In a cohort of 1–10-year-old children in Papua New Guinea, Genton and others observed a protective effect of low height-for-age against malaria attacks. Conversely, they found a significant increase in production of interferon- γ in response to stimulation by specific malarial antigens in stunted children compared than in their non-stunted counterparts.¹⁴ Thus, they suggested that this increase might explain, in part, the protection of stunted children. These findings demonstrate the importance of investigating the mechanisms of the antimalarial immune response in relation to childhood malnutrition.

In conclusion, the present study suggests that wasted preschool children are at lower risk of having subsequent clinical malaria, whereas no association was found with stunting. This apparent protection of wasted children from clinical malaria might be caused by a modulation of their immune response. To investigate this hypothesis, analyses aimed at assessing the antimalaria antibody response of children according to their nutritional status are in progress.

Received July 11, 2008. Accepted for publication October 8, 2008.

Acknowledgments: We thank El Hadj Ba for assessment of parasitemia; Ernest Faye for field supervision; the malaria field team for monitoring of malaria morbidity; Tofène Ndiaye, Amady Ndiaye, and Bassirou Fall for assessment of anthropometric measurements; Adama Marra for help with identification of eligible children and data management; Frederic Capuano and Cécile Cames for preliminary data analysis; and Jo Lines and Neal Alexander for contributions to the design of the study.

Financial support: The study was supported by the Gates Malaria Partnership, which receives support from the Bill and Belinda Gates Foundation and the London School of Hygiene and Tropical Medicine Department for International Development Malaria Knowledge Programme, and by the Institut de Recherche pour le Développement.

Authors' addresses: Florie Fillol, Amandine Cournil, Denis Boulanger, François Simondon, and Kirsten B. Simondon, Epidémiologie et Prévention, Institut de Recherche pour le Développement, Unité de Recherche 024, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier, France, E-mails: fillol@mpl.ird.fr, cournil@mpl.ird.fr, boulanger@mpl.ird.fr, simondof@mpl.ird.fr, and kirsten@mpl.ird.fr. Badara Cissé,

Département de Parasitologie, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal. E-mail: badara.cisse@lshtm.ac.uk. Cheikh Sokhna, Unité Mixte de Recherche 198, Institut de Recherche pour le Développement, BP 1386, CP 18524, Dakar Sénégal. E-mail: cheikh.sokhna@ird.sn. Geoffrey Targett, London School of Hygiene and Tropical Medicine, M LG4, 50 Bedford Square, London WC1B 3DP, United Kingdom. E-mail: geoff.targett@lshtm.ac.uk. Jean-François Trape, Unité Mixte de Recherche 198, Institut de Recherche pour le Développement, Paludologie Afro-Tropicale, BP 1386, CP 18524, Dakar Sénégal. E-mail: jean-francois.trape@ird.sn. Brian Greenwood, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Room 400, Keppel Street, London WC1E 7HT, United Kingdom. E-mail: brian.greenwood@lshtm.ac.uk.

REFERENCES

- UNICEF, 2007. *Progress for Children: A World Fit for Children: Statistical Review*. New York: United Nations, 19–24.
- Pelletier DL, 1994. The potentiating effects of malnutrition on child mortality: epidemiologic evidence and policy implications. *Nutr Rev* 52: 409–415.
- Fawzi WW, Herrera MG, Spiegelman DL, el Amin A, Nestel P, Mohamed KA, 1997. A prospective study of malnutrition in relation to child mortality in the Sudan. *Am J Clin Nutr* 65: 1062–1069.
- Man WD, Weber M, Palmer A, Schneider G, Wadda R, Jaffar S, Mulholland EK, Greenwood BM, 1998. Nutritional status of children admitted to hospital with different diseases and its relationship to outcome in The Gambia, West Africa. *Trop Med Int Health* 3: 678–686.
- Breman JG, 2001. The ears of the hippopotamus: manifestations, determinants, and estimates of the malaria burden. *Am J Trop Med Hyg* 64: 1–11.
- Fernando D, Wickremasinghe R, Mendis KN, Wickremasinghe AR, 2003. Cognitive performance at school entry of children living in malaria-endemic areas of Sri Lanka. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 97: 161–165.
- Branca F, Ferrari M, 2002. Impact of micronutrient deficiencies on growth: the stunting syndrome. *Ann Nutr Metab* 46 (Suppl 1): 8–17.
- Martorell R, Rivera J, Kaplowitz H, Pollitt E, 1992. Long-term consequences of growth retardation during early childhood. Hernandez M, Argente J, eds. *Human Growth: Basic and Clinical Aspects*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., 143–149.
- ter Kuile FO, Terlouw DJ, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Friedman JF, Kolczak MS, Kariuki SK, Shi YP, Kwena AM, Vulule JM, Nahlen BL, 2003. Impact of permethrin-treated bed nets on malaria and all-cause morbidity in young children in an area of intense perennial malaria transmission in western Kenya: cross-sectional survey. *Am J Trop Med Hyg* 68: 100–107.
- Bradley-Moore AM, Greenwood BM, Bradley AK, Kirkwood BR, Gilles HM, 1985. Malaria chemoprophylaxis with chloroquine in young Nigerian children. III. Its effect on nutrition. *Ann Trop Med Parasitol* 79: 575–584.
- Snow RW, Molyneux CS, Njeru EK, Omumbo J, Nevill CG, Muniu E, Marsh K, 1997. The effects of malaria control on nutritional status in infancy. *Acta Trop* 65: 1–10.
- Deen JL, Walraven GE, von Seidlein L, 2002. Increased risk for malaria in chronically malnourished children under 5 years of age in rural Gambia. *J Trop Pediatr* 48: 78–83.
- Snow RW, Byass P, Shenton FC, Greenwood BM, 1991. The relationship between anthropometric measurements and measurements of iron status and susceptibility to malaria in Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 85: 584–589.
- Genton B, Al-Yaman F, Ginny M, Taraika J, Alpers MP, 1998. Relation of anthropometry to malaria morbidity and immunity in Papua New Guinean children. *Am J Clin Nutr* 68: 734–741.
- Hendrickse RG, Hasan AH, Olumide LO, Akinkunmi A, 1971. Malaria in early childhood. An investigation of five hundred seriously ill children in whom a "clinical" diagnosis of malaria was made on admission to the children's emergency room at University College Hospital, Ibadan. *Ann Trop Med Parasitol* 65: 1–20.
- Ahmad SH, Moonis R, Shahab T, Khan HM, Jilani T, 1985. Effect of nutritional status on total parasite count in malaria. *Indian J Pediatr* 52: 285–287.
- Murray MJ, Murray AB, Murray NJ, Murray MB, 1978. Diet and cerebral malaria: the effect of famine and refeeding. *Am J Clin Nutr* 31: 57–61.
- Muller O, Garenne M, Kouyate B, Becher H, 2003. The association between protein-energy malnutrition, malaria morbidity and all-cause mortality in West African children. *Trop Med Int Health* 8: 507–511.
- Tshikuka JG, Gray-Donald K, Scott M, Olela KN, 1997. Relationship of childhood protein-energy malnutrition and parasite infections in an urban African setting. *Trop Med Int Health* 2: 374–382.
- Cisse B, Sokhna C, Boulanger D, Milet J, Ba el H, Richardson K, Hallett R, Sutherland C, Simondon K, Simondon F, Alexander N, Gaye O, Targett G, Lines J, Greenwood B, Trape JF, 2006. Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial. *Lancet* 367: 659–667.
- Robert V, Dieng H, Lochouran L, Traore SF, Trape JF, Simondon F, Fontenille D, 1998. Malaria transmission in the rural zone of Niakhar, Senegal. *Trop Med Int Health* 3: 667–677.
- Delaunay V, Etard JF, Preziosi MP, Marra A, Simondon F, 2001. Decline of infant and child mortality rates in rural Senegal over a 37-year period (1963–1999). *Int J Epidemiol* 30: 1286–1293; discussion 1294–1295.
- Etard JF, Le Hesran JY, Diallo A, Diallo JP, Ndiaye JL, Delaunay V, 2004. Childhood mortality and probable causes of death using verbal autopsy in Niakhar, Senegal, 1989–2000. *Int J Epidemiol* 33: 1286–1292.
- Simondon KB, Costes R, Delaunay V, Diallo A, Simondon F, 2001. Children's height, health and appetite influence mothers' weaning decisions in rural Senegal. *Int J Epidemiol* 30: 476–481.
- Lohman TG, Roche AF, Martorell R, 1988. *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Champaign, IL: Human Kinetics Books.
- Simondon KB, Bénédicte E, Simondon F, Delaunay V, Chahnazarian A, 1993. Seasonal variations in nutritional status of adults and children in rural Senegal. Ulijaszek SJ, Strickland SS, eds. *Seasonality and Human Ecology*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, 166–183.
- Simondon KB, Simondon F, Costes R, Delaunay V, Diallo A, 2001. Breast-feeding is associated with improved growth in length, but not weight, in rural Senegalese toddlers. *Am J Clin Nutr* 73: 959–967.
- Rogier C, Tall A, Diagne N, Fontenille D, Spiegel A, Trape JF, 1999. *Plasmodium falciparum* clinical malaria: lessons from longitudinal studies in Senegal. *Parassitologia* 41: 255–259.
- Rogier C, 2003. Childhood malaria in endemic areas: epidemiology, acquired immunity and control strategies. *Med Trop (MARS)* 63: 449–464.
- Friedman JF, Kwena AM, Mirel LB, Kariuki SK, Terlouw DJ, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Nahlen BL, Shi YP, ter Kuile FO, 2005. Malaria and nutritional status among pre-school children: results from cross-sectional surveys in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 73: 698–704.
- Simondon KB, Simondon F, 1998. Mothers prolong breastfeeding of undernourished children in rural Senegal. *Int J Epidemiol* 27: 490–494.
- Scrimshaw NS, Taylor CE, Gordon JE, 1968. Interactions of nutrition and infection. *Monogr Ser World Health Organ* 57: 3–329.
- Schaible UE, Kaufmann SH, 2007. Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Med* 4: e115.
- Cunningham-Rundles S, McNeeley DF, Moon A, 2005. Mechanisms of nutrient modulation of the immune response. *J Allergy Clin Immunol* 115: 1119–1128; quiz 1129.
- Field CJ, Johnson IR, Schley PD, 2002. Nutrients and their role in host resistance to infection. *J Leukoc Biol* 71: 16–32.
- Shankar AH, 2000. Nutritional modulation of malaria morbidity and mortality. *J Infect Dis* 182 (Suppl 1): S37–S53.
- Prentice AM, Ghattas H, Doherty C, Cox SE, 2007. Iron metabolism and malaria. *Food Nutr Bull* 28: S524–S539.

38. Oppenheimer SJ, Gibson FD, Macfarlane SB, Moody JB, Harrison C, Spencer A, Bunari O, 1986. Iron supplementation increases prevalence and effects of malaria: report on clinical studies in Papua New Guinea. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 80: 603–612.
39. Sazawal S, Black RE, Ramsan M, Chwaya HM, Stoltzfus RJ, Dutta A, Dhingra U, Kabole I, Deb S, Othman MK, Kabole FM, 2006. Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 367: 133–143.
40. Nyakeriga AM, Troye-Blomberg M, Dorfman JR, Alexander ND, Back R, Kortok M, Chemtai AK, Marsh K, Williams TN, 2004. Iron deficiency and malaria among children living on the coast of Kenya. *J Infect Dis* 190: 439–447.

3.2 Résumé et discussion de l'étude

En juillet 2003, 984 enfants, initialement inclus dans l'essai TPI (traités et témoins), ont été inclus dans « l'étude rebond ». Une enquête anthropométrique conduite à cette occasion permit d'évaluer l'impact de la malnutrition au début de la saison de transmission sur la prédisposition au paludisme.

Parmi les 984 enfants inclus dans le suivi, 27 enfants étaient absents au moment de l'enquête anthropométrique, 2 enfants avaient des mesures incomplètes, 8 décédèrent au cours du suivi et 3 enfants migrèrent hors de la zone d'étude. Les enfants sévèrement anémiés (ayant un taux d'hémoglobine < 7 g/dL de sang, n=56) et ceux souffrant de malnutrition sévère (périmètre brachial < 12,5 cm ou signe cliniques de malnutrition, n=70) reçurent un traitement prophylactique contre le paludisme et ont donc été exclus de l'analyse. Au final, l'analyse a été réalisée sur 874 enfants.

La malnutrition a été définie de la façon suivante :

- émaciation : Z-Score de l'indice poids/taille < -2 (référence NCHS, (Hamill *et al.*, 1979))
- retard de croissance staturale : Z-Score de l'indice taille/âge < -2 (référence NCHS, (Hamill *et al.*, 1979))
- insuffisance pondérale : Z-Score de l'indice poids/âge < -2 (référence NCHS, (Hamill *et al.*, 1979)).

Tous les enfants inclus ont bénéficié d'un suivi actif de la morbidité palustre par passages hebdomadaires d'enquêteurs au domicile des enfants. Lors de ces visites, une goutte épaisse était réalisée en cas de suspicion de crise palustre. Si la goutte épaisse était positive, l'enfant recevait alors immédiatement un traitement présomptif antipaludique.

Afin d'estimer le risque des enfants de souffrir d'une crise palustre selon la malnutrition en début de saison des pluies, nous avons utilisé un modèle mixte de régression non-linéaire. Dans notre modèle, nous avons introduit comme variable à expliquer : « la survenue d'au moins une crise palustre au cours du suivi de l'étude rebond », codée oui/non. Les variables explicatives introduites comme effet fixe étaient : l'âge des enfants (en classe), le traitement présomptif (oui/non) et la malnutrition (oui/non). Le hameau a été introduit comme une variable aléatoire.

Le retard de croissance staturale, l'émaciation et l'insuffisance pondérale ont été tour à tour introduits dans le modèle mixte.

Les résultats de ces analyses indiquent que les enfants émaciés au début de la saison de transmission ont moins de risque de souffrir de crise palustre que les enfants bien-portants. Aucune association entre la survenue d'une crise palustre et le retard de croissance staturale ou l'insuffisance pondérale n'a été mise en évidence dans cette étude. Cependant, parmi les enfants portant le parasite, ceux qui souffrent de retard de croissance staturale présentent une charge parasitaire significativement plus élevée que les enfants non retardés en taille.

La diminution de la prédisposition au paludisme chez les enfants émaciés est un résultat assez surprenant et, à notre connaissance, rapporté pour la première fois.

Afin de tester la robustesse de ce résultat, nous avons réalisé des analyses complémentaires. En effet, l'exclusion des 70 enfants ayant reçu une chimioprophylaxie à l'inclusion dans l'étude rebond pourrait représenter un biais de sélection. Nous avons donc procédé à une nouvelle analyse en incluant ces enfants dans l'échantillon et en considérant ces enfants comme ayant tous reçu un traitement présomptif. Les résultats de cette analyse confirment la diminution du risque de développer au moins une crise palustre chez les enfants émaciés.

Par ailleurs, la protection contre le paludisme des enfants émaciés pourrait s'expliquer par le fait qu'ils aient reçu plus de traitements présomptifs. Nous avons donc comparé le nombre de traitements présomptifs reçus par les enfants émaciés à celui reçu par les enfants bien-portants. Aucune différence n'est observée entre le pourcentage d'enfants émaciés et celui d'enfants bien-portants ayant reçu au moins un traitement présomptif.

Le faible nombre d'enfants émaciés ($n=27$) en début d'hivernage apparaît être une limitation dans cette étude. Il a été montré que le poids des enfants est soumis à d'importantes variations saisonnières dans la zone de Niakhar, avec un poids minimum observé aux mois de septembre-octobre (Simondon KB *et al.*, 1993). Par conséquent, une mesure anthropométrique des enfants en septembre aurait probablement mis à jour une plus forte prévalence d'émaciation au sein des enfants inclus. Cependant, bien que le pic de transmission du paludisme se situe en septembre-octobre, les enfants développent des crises palustres dès le début de la transmission du parasite. Il est donc probable que pour certains enfants, l'émaciation en septembre résulte de la morbidité palustre survenue entre le mois de juillet et le mois de septembre. On peut supposer que la prédisposition au paludisme des enfants émaciés suite à des crises palustres est différente de celle des enfants émaciés pour d'autres raisons (infections gastro-intestinales, trop faible apport alimentaire...). Par conséquent, la relation entre émaciation en septembre et crise palustre pourrait être biaisée. En se plaçant au début de la saison de transmission, on suppose que les causes de l'émaciation des enfants à ce temps t sont indépendantes des crises palustres très peu fréquentes en saison sèche. Ainsi, on observe réellement l'effet de la malnutrition sur la morbidité palustre en s'affranchissant de l'effet de confusion des crises palustres précédentes.

Une analyse a été réalisée en complément de la publication afin de vérifier si l'association entre émaciation et prédisposition au paludisme persistait lorsque la malnutrition était définie selon les nouveaux standards OMS. Dans le cadre du travail publié, l'estimation de la prévalence des différents types de malnutrition s'appuie sur la population de référence NCHS (cf chapitre 1, section 1.3.2.2. i.). Or, l'OMS a récemment mis au point de nouveaux standards plus proches de la croissance physiologique des enfants et utilisables indépendamment de l'origine ethnique, du statut socio-économique et du type d'allaitement.

Les résultats de cette analyse sont indiqués dans les tableaux ci-après.

Les nouveaux standards OMS ne permettent pas de calculer l'indice WHZ pour des enfants âgés de 61 mois et plus. Ainsi l'indice WHZ est manquant pour 16% de notre effectif. Cependant, il est reconnu que l'émaciation touche généralement les enfants les plus jeunes. Nous avons donc décidé, en ce qui concerne l'émaciation, de restreindre l'échantillon aux enfants de moins de 61 mois (donc n=732 pour l'indice WHZ et pour le calcul de la prévalence de l'émaciation selon les nouveaux standards OMS).

Nous avons également observé l'indice BMIZ (Z-Score de l'indice de masse corporelle) qui permet comme le WHZ de renseigner l'émaciation des enfants. Nous avons considéré qu'un enfant était maigre si son BMIZ était inférieur à -2.

Tableau 7: Indices nutritionnels et prévalence des différents types de malnutrition des 874 enfants inclus dans l'étude rebond en fonction de la population de références

	Standards OMS 2006 (n=874)	Référence NCHS (n=874)
Indices nutritionnels		
HAZ (\pm SD)	-1,24 \pm 1,02	-1,09 \pm 1,00
WAZ (\pm SD)	-0,81 \pm 0,91	-0,99 \pm 0,92
WHZ (\pm SD)	-0,08 \pm 0,98*	-0,40 \pm 0,88
BMIZ (\pm SD)	-0,03 \pm 0,99	-
Prévalence de la malnutrition[†]		
Retard de croissance staturale (n)	23,3 (203)	18,9 (165)
Insuffisance pondérale (n)	8,5 (74)	12,5 (109)
Emaciation basée sur WHZ (n)	2,9** (21)	3,1 (27)
Maigreur basée sur BMIZ (n)	2,3 (20)	- -

* l'indice WHZ n'a pu être calculé pour 142 enfants âgés de 61 mois et plus.

** prévalence de l'émaciation : 21/732.

Tableau 8: Prévalence d'au moins une crise palustre en fonction de la malnutrition des enfants selon les standards OMS 2006

	≥ 1 crise palustre (%)	P value*
Malnutrition		
Retardé en taille	64,0	0,77
Non retardé en taille	62,9	
Poids insuffisant	51,4	0,03
Poids normal	64,3	
Emacié**	42,9	0,03
Non émacié	65,7	
Maigre [†]	45,0	0,09
Non maigre	63,6	

* test du Chi²

** l'indice WHZ n'a pu être calculé pour 142 enfants âgés de 61 mois et plus.

[†] BMIZ < -2

Les résultats des analyses univariées indiquent en accord avec la publication que le retard de croissance en taille n'est pas associé au risque de développer au moins une crise palustre pendant l'hivernage. Ces résultats confirment également que les enfants émaciés ou présentant un poids insuffisant ont développé moins de crises palustres que les enfants bien-portants.

De plus, l'indice BMIZ semble indiquer une moindre prédisposition au paludisme chez les enfants maigres, mais cette différence n'est pas significative.

Les différents types de malnutrition ont ensuite été introduits tour à tour dans un modèle mixte multivarié afin d'ajuster l'association entre crise palustre et malnutrition sur l'effet de l'âge, du traitement présomptif (effets fixes) et du lieu de résidence (effet aléatoire).

En considérant l'échantillon restreint aux enfants de moins de 61 mois (n=732), les résultats du modèle mixte indiquent que les enfants émaciés (selon les nouveaux standards OMS) ont un risque de survenue de crise palustre diminué de 63% par rapport aux enfants non-émaciés (p=0,049). L'exclusion des 142 individus pour qui le WHZ n'a pu être calculé se traduit par une perte de puissance qui augmente la valeur de p en comparaison aux résultats obtenus selon la référence NCHS.

Aucune des trois autres formes de malnutrition (retard de croissance staturale, insuffisance pondérale ou maigreur définie par le BMIZ) introduites tour à tour dans le modèle mixte n'apparaît significativement associée au risque de survenue d'une crise palustre.

Bien que les résultats soient à la limite de la significativité, ils confirment l'influence de l'émaciation sur la prédisposition au paludisme. De plus, ces résultats sont cohérents avec ceux présentés dans la publication, à savoir que le retard de croissance en taille ne semble pas lié au risque de survenue d'une crise palustre, alors que les enfants souffrant de maigreur ou d'insuffisance pondérale semblent être moins enclins aux crises de paludisme.

Toutefois, la diminution du risque de crise palustre chez les enfants émaciés reste un résultat inattendu. Deux hypothèses ont été avancées afin d'expliquer ces observations.

La première hypothèse suppose que l'apparente protection contre le paludisme des enfants émaciés serait liée à un comportement protecteur plus important chez les mères de ces enfants.

Celles-ci pourraient être plus attentives à ce que l'enfant dorme bien sous moustiquaire, ne le laisseraient pas jouer dehors une fois la nuit tombée, éviteraient de garder « des eaux stagnantes » dans la concession (propos recueillis, à la question « que faites vous en général pour protéger votre enfant du paludisme ? » lors d'une enquête anthropométrique dans le cadre du projet « Prévention Saisonnière du Paludisme » au Sénégal en 2008).

Bien que très probable, la vérification de cette hypothèse s'avère difficile. En effet, cela nécessiterait de mettre en place des enquêtes observationnelles afin d'étudier la relation mère-enfant et de suivre quotidiennement les agissements des mères sur de longues

périodes. De plus, les résultats de ce type d'enquêtes doivent souvent être considérés avec prudence car il est connu que les individus inclus dans une étude d'observation étroite ont tendance à modifier leur comportement du simple fait de se savoir observé (effet Hawthorne (Wickstrom *et al.*, 2000)).

La deuxième hypothèse envisagée pour expliquer ces résultats suppose que l'apparente protection des enfants émaciés pourrait s'expliquer par un effet biologique lié à la malnutrition. Il pourrait s'agir d'un effet biologique direct de la déficience de certains micronutriments sur le développement du parasite. A titre d'exemple, il a été reporté qu'une carence en antioxydants, tels que la vitamine E, la vitamine C ou encore le β -carotène, favoriserait un environnement hostile pour le parasite qui serait plus vulnérable aux radicaux libres produits par la réponse immune de l'hôte (Shankar, 2000). Mais cet effet protecteur pourrait également être lié à un effet direct de la malnutrition sur l'immunité anti-paludisme de l'hôte. Ainsi, la deuxième hypothèse considérée suggère que la malnutrition pourrait moduler la réponse immunitaire spécifique à *P. falciparum*. Cette hypothèse a fait l'objet de notre troisième et dernière étude dans la relation entre malnutrition et paludisme.

→ Résultats principaux

- Les enfants émaciés font significativement moins de crises palustres que les enfants bien-portants.
- Le retard de croissance en taille n'est pas associé au risque de survenue d'une crise palustre.
- Parmi les enfants porteurs de *P. falciparum*, les enfants retardés en taille présente une charge parasitaire plus élevée que les enfants non-retardés en taille.

→ Interprétation

Le type de malnutrition des enfants pourrait influencer différemment la morbidité palustre :

- l'émaciation aurait un impact sur les crises cliniques
- le retard de croissance en taille aurait un effet sur la parasitémie

→ Hypothèses

- Les mères des enfants émaciés auraient un comportement plus protecteur envers leurs enfants
- La malnutrition par un effet biologique agirait sur la morbidité palustre par l'intermédiaire d'une modulation de la réponse immunitaire spécifique anti-*P. falciparum*.

**Chapitre 4 : Impact de la malnutrition
des enfants sur la réponse immune
spécifique à *Plasmodium falciparum***

4.1 Présentation de l'étude

L'état nutritionnel joue un rôle essentiel dans le développement de l'immunité et dans le déroulement de la réponse immune appropriée lors d'une infection (Chandra, 1999). De plus, de nombreuses études ont montré l'implication des micronutriments dans la régulation des fonctions immunitaires (Cipitelli *et al.*, 1996; Shankar *et al.*, 1998; Cunningham-Rundles *et al.*, 2005). Par conséquent, il semble probable que la malnutrition puisse être impliquée dans la régulation de la réponse immunitaire spécifique à *P. falciparum*.

De nombreux travaux ont porté leur attention sur la réponse immunitaire déclenchée par l'infection palustre et sur les facteurs pouvant influencer cette réponse. Cependant, très peu d'études ont été réalisées afin de comprendre l'effet de la malnutrition sur la réponse immunitaire spécifique à *P. falciparum* et leurs conclusions sont contradictoires.

Les résultats de l'étude précédente montrent d'une part, que les enfants émaciés sont moins susceptibles au paludisme que les enfants bien portants, et d'autre part, que le retard de croissance staturale semble exacerber la charge parasitaire des enfants porteurs du parasite.

Une des hypothèses émises pour expliquer ces résultats s'appuie sur une approche biologique et suggère que la malnutrition pourrait moduler la réponse immune spécifique chez ces enfants.

L'objectif principal de la présente étude a été d'évaluer la réponse anticorps spécifiques anti-*P. falciparum* dans le sérum d'un sous-échantillon des enfants inclus dans l'étude rebond et d'observer si les enfants souffrant de malnutrition présentaient une réponse immune spécifique différente de celle des enfants bien-portants.

En juillet 2003, lors de l'inclusion des enfants dans l'étude rebond, une enquête transversale permit à la fois de collecter les données anthropométriques et de réaliser des prélèvements sanguins des enfants afin de déterminer leur charge parasitaire (figure 10). Parmi les 874 enfants inclus dans la précédente étude, les parents de 787 enfants acceptèrent le prélèvement de sang au mois de juillet.

Afin d'évaluer l'impact de la malnutrition sur la réponse immune spécifique contre le paludisme, nous avons sélectionné, parmi les enfants inclus dans l'étude précédente, ceux émaciés ou retardés en taille en juillet 2003. Nous avons ensuite apparié chaque enfant malnutris à un témoin ne souffrant ni d'émaciation ni de retard de croissance staturale et également inclus dans l'étude rebond. L'appariement aléatoire de ces enfants a été réalisé sur le sexe, la classe d'âge (d'un an d'intervalle) et le village de résidence.

Cette étude constitue une première approche dont le but est d'observer l'effet de la malnutrition des enfants sur la réponse globale anti-*P. falciparum*. Pour observer cet effet, deux voies immunologiques peuvent être envisagées : la réponse à médiation cellulaire ou la réponse à médiation humorale (anticorps).

Notre objectif étant d'observer la réponse immune spécifique la plus globale possible, nous avons décidé d'évaluer la production d'anticorps spécifique qui reflète la stimulation des cellules immunocompétentes. Pour cela, nous avons choisi de mesurer les taux d'immunoglobulines G (IgG) dirigées contre un extrait d'antigènes totaux de schizonte car ils représentent l'image la plus globale de la réponse immune spécifique à *P. falciparum* (Aribot *et al.*, 1996; Perraut *et al.*, 2002).

Les IgG présents dans les sera des enfants sélectionnés ont été dosés par ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Essay).

Dans un premier temps, la réponse IgG spécifique anti-*P. falciparum* de l'ensemble des enfants malnutris (les enfants émaciés et ceux retardés en taille) a été comparée à celle de leur témoin apparié. Puis la réponse Ac spécifique a été évaluée selon le type de malnutrition des enfants (émaciés ou retardés en taille) et comparée à celle de leurs témoins respectifs.

Dans un deuxième temps, nous avons exploré l'impact de la sévérité du retard de croissance staturale sur la réponse Ac. Les enfants présentant un indice taille/âge inférieur à -2.5 Z-Scores ont été considérés comme sévèrement retardés en taille. Il est d'usage de fixer un seuil à -3 Z-Scores pour définir la malnutrition sévère. Cependant, le choix de ce seuil est arbitraire (cf première partie, chapitre 1, section 1.3.2.2) et notre étude se déroule dans une zone où la prévalence de malnutrition est plutôt modérée, par conséquent pour avoir une puissance statistique suffisante nous avons décidé de définir le retard de croissance staturale sévère pour un HAZ inférieur à -2,5.

Le nombre d'enfants émaciés étant trop faible (n=19), nous n'avons pas pu analyser l'impact de la sévérité de l'émaciation sur la réponse Ac spécifique.

Apparier les enfants malnutris à des témoins permet de contrôler l'effet de l'âge, du sexe et du lieu de résidence (village) dans l'association entre malnutrition et réponse anticorps.

Cependant, cet appariement ne tient pas compte de l'intensité d'infection des enfants. Or, une étude conduite au Sénégal afin d'évaluer la réponse anticorps en fonction de l'exposition à différents vecteurs de *P. falciparum* a mis en évidence une corrélation entre taux d'IgG et intensité d'infection (Sarr *et al.*, 2007). De plus, dans notre précédente étude nous avons rapporté une association entre retard de croissance staturale et charge parasitaire élevée. Par conséquent, l'intensité d'infection, à la fois liée à la réponse Ac et à la malnutrition, pourrait être un facteur de confusion dans l'association entre réponse IgG spécifique et malnutrition. Il est donc nécessaire de prendre en compte l'intensité d'infection dans notre analyse. Pour cela, nous avons utilisé un modèle multivarié permettant d'estimer la différence de réponse Ac anti-schizonte en fonction de la malnutrition quelque soit l'intensité d'infection.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue internationale « Malaria Journal ».

Fillol F, Sarr JB, Boulanger D, Cissé B, Sokhna C, Riveau G, Simondon KB, Remoué F:

Impact of child malnutrition on the specific anti-Plasmodium falciparum antibody response. *Malar J* 2009, **8**:116.

Research

Open Access

Impact of child malnutrition on the specific anti-*Plasmodium falciparum* antibody response

Florie Fillol*¹, Jean Biram Sarr², Denis Boulanger¹, Badara Cisse³,
Cheikh Sokhna⁴, Gilles Riveau², Kirsten Bork Simondon¹ and
Franck Remoué⁵

Address: ¹Institut de Recherche pour le Développement, Unité mixte de Recherche 145, 911 Avenue Agropolis, BP64501, 34394 Montpellier, France, ²ONG Espoir Pour La Santé (EPLS), BP 226 Saint-Louis, Sénégal, ³Université Cheikh Anta Diop, Department of Parasitology, Dakar, Senegal, ⁴Institut de Recherche pour le Développement, Unité mixte de Recherche 198, Route des Pères Maristes, BP 1386, 18524 Dakar, Sénégal and ⁵Institut de Recherche pour le Développement, Unité de recherche 016, 911 avenue Agropolis, BP64501, 34394 Montpellier, France

Email: Florie Fillol* - florie.fillol@ird.fr; Jean Biram Sarr - sarjeanbirame@yahoo.fr; Denis Boulanger - denis.boulanger@ird.fr; Badara Cisse - badar.cisse@lstmh.ac.uk; Cheikh Sokhna - cheikh.sokhna@ird.sn; Gilles Riveau - gilles.riveau@gmail.com; Kirsten Bork Simondon - kirsten.simondon@ird.fr; Franck Remoué - franck.remoue@ird.fr

* Corresponding author

Published: 2 June 2009

Received: 27 March 2009

Malaria Journal 2009, 8:116 doi:10.1186/1475-2875-8-116

Accepted: 2 June 2009

This article is available from: <http://www.malariajournal.com/content/8/1/116>

© 2009 Fillol et al; licensee BioMed Central Ltd.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Background: In sub-Saharan Africa, preschool children represent the population most vulnerable to malaria and malnutrition. It is widely recognized that malnutrition compromises the immune function, resulting in higher risk of infection. However, very few studies have investigated the relationship between malaria, malnutrition and specific immunity. In the present study, the anti-*Plasmodium falciparum* IgG antibody (Ab) response was evaluated in children according to the type of malnutrition.

Methods: Anthropometric assessment and blood sample collection were carried out during a cross-sectional survey including rural Senegalese preschool children. This cross-sectional survey was conducted in July 2003 at the onset of the rainy season. Malnutrition was defined as stunting (height-for-age <-2 z-scores) or wasting (weight-for-height <-2 z-scores). The analysis was performed on all malnourished children in July (n = 161, either stunted, n = 142 or wasted, n = 19), pair-matched to well-nourished controls. The IgG Ab response to *P. falciparum* whole extracts (schizont antigens) was assessed by ELISA in sera of the included children.

Results: Both the prevalence of anti-malarial immune responders and specific IgG Ab levels were significantly lower in malnourished children than in controls. Depending on the type of malnutrition, wasted children and stunted children presented a lower specific IgG Ab response than their respective controls, but this difference was significant only in stunted children (P = 0.026). This down-regulation of the specific Ab response seemed to be explained by severely stunted children (HAZ ≤ -2.5) compared to their controls (P = 0.03), while no significant difference was observed in mildly stunted children (-2.5 < HAZ < -2.0). The influence of child malnutrition on the specific anti-*P. falciparum* Ab response appeared to be independent of the intensity of infection.

Conclusion: Child malnutrition, and particularly stunting, may down-regulate the anti-*P. falciparum* Ab response, both in terms of prevalence of immune responders and specific IgG Ab levels. This study provides further evidence for the influence of malnutrition on the specific anti-malarial immune response and points to the importance of taking into account child malnutrition in malaria epidemiological studies and vaccine trials.

Background

Children under five years of age are particularly vulnerable to *Plasmodium falciparum* infection. Each year, about 800,000 children die of malaria, and 75% of these deaths occur in African children [1,2]. Moreover, undernutrition is highly prevalent in developing countries and is considered to be the underlying cause of more than 50% of all childhood deaths in the world [3]. In sub-Saharan Africa, 38% of children under five years of age suffer from chronic malnutrition or stunting (height-for-age z-score below -2 of an international growth reference), and acute malnutrition or wasting (weight-for-height z-score below -2) affects 9% of preschool children [1]. The interaction between malaria and malnutrition has been investigated for many years. It is now widely recognized that malnutrition and malaria share certain consequences, including cognitive impairment and decreased school performance [4-6]. Although numerous studies have shown a deleterious effect of malaria on nutritional status [7-9], whether and how malnutrition influences malaria morbidity remain unknown. Several older studies based on hospital admissions for severe malaria showed lower risk of malaria infection among undernourished children [10-12]. However, results of recent community-based studies are conflicting: two studies showed that stunting increased the risk of malaria morbidity among rural children in Gambia [13,14], whereas a trial in Papua New Guinea indicated that stunting protected children from *P. falciparum* malaria [15]. In addition, several studies found no significant association between stunting or height-for-age z-score and malaria morbidity [16-20]. With regard to wasting, some studies showed a trend to lower malaria-related morbidity among wasted children [13,18,21]. Altogether, these studies point to the importance of taking into account the kind of child malnutrition (stunting/wasting) in the relationship between malaria and malnutrition.

From July to December 2003, an observational follow-up study was conducted in a cohort of 2-59-month-old children living in a rural area of Senegal where malaria transmission was highly seasonal. The influence of child malnutrition at the onset of the rainy season upon subsequent susceptibility to malaria was investigated during that survey [20]. Results indicated that wasted children were at lower risk of experiencing at least one subsequent clinical malaria attack, whereas no association was observed in stunted children. However, among parasitaemic children in July 2003, stunted children had a significantly greater risk of being highly parasitaemic. Some non-biological explanations were considered to account for these unexpected results, such as overprotection of wasted children by their mothers. It was also assumed that the influence of child nutritional status on subsequent

malaria morbidity may be related to modulation of malaria immunity. There is now clear evidence that malnutrition down-regulates immune functioning, resulting in higher risk of infection [22,23]. Some studies have shown that micronutrients are significant modulators of anti-pathogen immunity [24,25]. However, very few studies have investigated the relationship between malaria, specific immunity and malnutrition [15,26-28]. Among these studies, two showed no impact of malnutrition on the antibody (Ab) response to *P. falciparum* [27,28], whereas one survey indicated lower specific Ab levels in children who suffered from malnutrition [26]. In addition, a trial in Papua New Guinea showed that the IgG Ab response to *P. falciparum* schizont extract was lower in wasted children than in well-nourished children [15].

These discrepant results demonstrate the need to further investigate the impact of child malnutrition on anti-malarial immunity. Thus, a first approach was to determine whether child malnutrition modulates the overall anti-*P. falciparum* immune response. It has been previously shown that Ab levels directed to wide antigens of *P. falciparum*, such as schizont antigens, were associated with *P. falciparum* infection [29] and, therefore, represented an overall view of anti-malarial immunity [30,31]. Consequently, to investigate the impact of child malnutrition on the overall anti-*P. falciparum* immune response, IgG Ab levels specific to *P. falciparum* whole extracts (schizont antigens) were assessed according to child malnutrition, stunting and/or wasting and the severity of stunting.

Methods

Study area and population

The study was performed in Niakhar, a rural district of Senegal located 150 km southeast of the capital city of Dakar. The rainy season occurs from early July to October. No river and few permanent waterholes are found in the area. Consequently, *P. falciparum* malaria transmission is highly seasonal and takes place from August to October, with an average of 9-12 infective bites per person per year [32]. The mortality rate for children aged 1-4 years was 144 per 1000 live-births from 1994-1999 [33]. Malaria accounts for a quarter of all deaths in 1-4-year-old children [34]. The nutritional status of infants and preschool children is largely dependent on season, with the greatest weight-for-height and height-for-age at the end of the dry season (March-May) and the lowest averages following the end of the rains (October-November) [35].

Study design

The present study is a nested case-control study among a cohort of 984 preschool children living in eleven villages in the area. This cohort was followed during one malaria transmission season from July to December 2003. The

study design has been described in detail elsewhere [20]. Briefly, an intermittent preventive treatment (IPT) trial was conducted in 2002 among 2–59 month-old rural Senegalese children [36]. To assess the risk of malaria attack after terminating the IPT intervention, a longitudinal observational follow-up survey was conducted from July to December 2003 among children previously included in the IPT trial. A cross-sectional survey was conducted in July upon inclusion at follow-up to collect anthropometric data and blood samples.

The present analysis is a cross-sectional sub-study using data collected in July at the onset of the follow-up survey.

Participants

Subjects included in this analysis represent a sub-sample of the cohort followed in 2003.

Inclusion criteria for children included in the 2003 follow-up survey have been previously described [20]. Briefly, 984 preschool children baseline included in the IPT trial in 2002 were enrolled in July 2003 and followed until December 2003. Among the 984 children enrolled in July, 874 were included in an analysis which investigated the influence of child malnutrition on subsequent malaria morbidity [20].

Among the 874 children, those eligible for the present analysis were all stunted children ($n = 165$) and wasted children ($n = 27$) in July 2003. Children both stunted and wasted ($n = 8$) were excluded from the present analysis which aims at investigating the influence of the type of malnutrition on anti-malarial Ab response. Fifteen children were absent at the time of blood sample collection or refused blood sample and were excluded from the analysis. The nutritional status and the age of these excluded children were not statistically different from those of the included children.

The 161 remaining malnourished children (142 stunted and 19 wasted) were randomly pair-matched to well-nourished control children belonging to the cohort. Finally, a total of 322 children were included in the present analysis.

Ethics

Both the 2002 and 2003 anti-malarial studies and the present study followed ethical principles according to the Helsinki Declaration and were approved by the ethical committees of the Ministry of Health of Senegal (August 2002 and May 2003, respectively) and the IRD (January 2004). The anti-malarial trial was approved by the ethical committee of the London School of Hygiene and Tropical Medicine in June 2002. Informed consent was obtained from the study population.

Parasitaemia assessment

Capillary blood samples were collected in July. Parasite densities were estimated in thick blood films, assuming an average white-blood-cell count of 8,000 per μL as previously described [20]. All slides related to acute episodes were read by two laboratory technicians. Among the 322 children included in this analysis, 16 cases (malnourished) and 14 controls did not undergo parasite density assessment due to technical failure during the processing of the slides.

Anthropometric measurements

Anthropometric data were collected during home visits by two trained measurers in July 2003 [20], in accordance with internationally recommended procedures [37]. Weight measurements were taken using baby scales (SECA, Hamburg, Germany), precise to the nearest 10 g, for children weighing less than 16 kg, and an electronic scale (Téfal, Paris, France), precise to the nearest 100 g for older children. Recumbent length measurements were taken for children under 2 years of age, while standing height was measured beyond that age. Measurements were precise to the nearest mm. Height and length measurements were taken twice at each visit and the average was used for analysis.

Evaluation of the IgG Ab response

The IgG Ab levels directed to total schizont antigen were assessed in sera of included children using antibody capture ELISA. Total schizont antigen is a soluble extract of *P. falciparum* schizont lysate obtained from infected erythrocytes and kindly provided by A-M. Schacht from the Pasteur Institute of Lille.

Schizont extracts (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) were coated on flat-bottom microtiter plates (Nunc, Roskilde, Denmark) with 100 $\mu\text{L}/\text{well}$ for 2 h 30 at 37°C. Plate wells were then blocked for 30 min at room temperature with 200 μL of blocking buffer, pH 6.6 (phosphate-buffered saline, PBS), 0.5% gelatin (Merck, Darmstadt, Germany) and washed one time with PBS, pH 7.2, 0.1% Tween 20 (Sigma, Saint Louis, MO, USA). Individual sera were incubated in duplicate at 4°C overnight at a 1/100 dilution (in PBS-Tween-0.1%). This dilution was determined as optimal after several preliminary experiments [29]. For detecting human IgG, plates were incubated for 90 min at 37°C with 100 μL of mouse biotinylated mAb to human IgG (BD Pharmingen, San Diego CA, USA) diluted 1/1000 in PBS-Tween 0.1%, after washing three times with PBS-Tween 0.1%. Plate wells were then washed four times with PBS-Tween and incubated for 30 min at room temperature with 100 μL of peroxidase-conjugated streptavidin (Amersham Biosciences, les Ulis, France). After washing six times with PBS-Tween, colorimetric development was carried out using ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazol-

line 6-sulfonic acid) diammonium; Sigma) in 50 mM citrate buffer (Sigma, pH = 4, containing 0.003% H₂O₂), and absorbance (optical density, OD) was measured at 405 nm. Individual results were expressed as Δ OD value calculated according to the formula: Δ OD = OD_x-OD_n, where OD_x was the individual OD value and OD_n was the individual OD value for each serum without antigen. Negative controls (European individual, n = 30) were used for each assay (OD_{neg}). A subject was considered as an immune responder if his Δ DO was higher than the OD_{neg} arithmetic mean + (3 × SD) value.

Statistical analyses

The nutritional indicators height-for-age (HAZ) and weight-for-height (WHZ) were computed in z-scores of the WHO/NCHS reference using Epi Info software V.6. Stunting and wasting were defined for values below -2 for HAZ and WHZ, respectively. Mild stunting was defined as $-2.5 < \text{HAZ} < -2.0$ and severe stunting as $\text{HAZ} \leq -2.5$. In literature the commonest threshold used to define severe stunting is $\text{HAZ} \leq -2.5$. However, the use of thresholds for malnutrition is often debated as these thresholds are arbitrary [38]. Moreover the -2.5 z-scores cut-off was used in this study to provide a sufficient number of severely stunted subjects in order to perform analyses with enough statistical power. Upon assessment in July 2003, children were allocated to one of five age strata: 12–23.9, 24–35.9, 36–47.9, 48–60 and over 60 months, respectively.

Each malnourished child (either stunted or wasted) was pair-matched to a control based on age strata, sex and place of residence. Malnourished children were randomly pair-matched to control children using a random table number. A control child was defined as neither wasted nor stunted (HAZ and $\text{WHZ} > -2$ z-scores). To evaluate the intensity of infection, parasite densities were normalized by log-transformation ($\log(x+1)$) and geometric means and 95% confidence intervals (CI) of parasite densities were calculated in each group of children.

Statistical analyses were done using Graph-Pad Prism software (GraphPad, San Diego, CA) and SAS version 8.2 software (SAS, V8.2; SAS Institute, Cary, NC). Geometric means of parasite densities were compared between groups using the paired t-test. The difference between groups in prevalence of immune responders was assessed using the MacNemar test.

Logistic multivariate regressions were used to estimate the association between prevalence of immune responders and malnutrition adjusted for potential confounders (intensity of infection and groups of age).

After verifying that values did not assume a Gaussian distribution, the correlation between IgG Ab levels (log OD)

and intensity of infection was estimated using the Spearman correlation (non parametric correlation). The Wilcoxon rank signed test (non-parametric match-paired test) was used for comparison of IgG Ab levels between cases and controls.

Generalized linear regressions were used to estimate the association between IgG Ab levels (log OD) and malnutrition adjusted for intensity of infection and groups of age.

All differences were considered significant at $P < 0.05$.

Results

A total of 322 children were included in this cross-sectional sub-study: 161 were malnourished (either stunted or wasted) and 161 were pair-matched well-nourished controls (Table 1). Among these 161 malnourished children, 142 were stunted and 19 were wasted.

Correlation between IgG Ab levels and intensity of infection

It has been previously shown that Ab levels directed to wide antigens of *P. falciparum*, such as schizont antigens, were associated with *P. falciparum* infection [29]. Therefore, the intensity of infection could be a confounder in the association between malnutrition and anti-*P. falciparum* Ab response, i.e. IgG Ab levels could be correlated to parasitaemia. The specific *P. falciparum* IgG Ab levels, appeared to be positively correlated with the intensity of infection both among malnourished and control children ($r = 0.53$, $P < 0.0001$ and $r = 0.52$, $P < 0.0001$, respectively). This positive significant correlation was similar both among stunted children, mildly or severely stunted children and their controls. Among wasted children the correlation seemed to be lower than in the other groups of children, but this correlation was not statistically significant ($r = 0.25$, $P = 0.32$).

The specific anti-*P. falciparum* IgG response according to malnutrition

The prevalence of anti-malarial immune responders (Table 2) was significantly lower in malnourished children (with stunted children and wasted children pooled) than in controls ($P = 0.001$) whereas no significant difference in the geometric mean of parasite density was observed between the two groups. When adjusting for parasite density using a logistic multivariate regression, the odds ratio of being immune responder was significantly below 1 (OR = 0.4, $P = 0.01$), indicating that prevalence of immune responders was significantly lower in malnourished children compared to their controls regardless of intensity of infection.

IgG Ab levels directed to schizont extracts presented according to child malnutrition are presented in Figure 1.

Table 1: Characteristics of rural Senegalese preschool children included in the analysis.

Variable	All children n = 322		Malnourished children n = 161		Pair-matched control children n = 161	
	n or mean	% or SD	n or mean	% or SD	n or mean	% or SD
Child's age (months)						
12–23.9	32	19.9	32	19.9	32	19.9
24–35.9	31	19.3	31	19.3	31	19.3
36–47.9	43	26.7	43	26.7	43	26.7
48–60	33	20.5	33	20.5	33	20.5
>60	22	13.6	22	13.6	22	13.6
Mean age (months)	41.4	15.9	40.9	16.0	41.9	15.8
Sex						
Female	166	51.5	83	51.5	83	51.5
Male	156	48.5	78	48.5	78	48.5
Nutritional status						
Height-for-age (z-score)	-1.55	1.04	-2.31	0.72	-0.79	0.71
Weight-for-height (z-score)	-0.42	0.97	-0.61	1.01	-0.22	0.89
Prevalence of malnutrition						
Stunting	142	44.1	142	88.2	0	-
Wasting	19	5.9	19	11.8	0	-

A 45% decrease in the IgG Ab level was observed in malnourished children compared to control children (Figure 1A, $P = 0.008$).

When adjusting for intensity of infection using a generalized linear regression, malnourished children presented a significant 33% decrease of IgG Ab levels compared to well-nourished control children ($r = -0.33$, $P = 0.004$).

The specific IgG response was explored according to the type of child malnutrition (Figure 1B, C). The prevalence

of immune responders (Table 2), the IgG Ab levels (Figure 1B), and geometric means of parasite densities (Table 2) tended to be lower in wasted children than in controls, but the difference was not statistically significant. Moreover no significant correlation was found between IgG Ab levels and parasite density among wasted children.

Conversely, the prevalence of immune responders (Table 2) and the specific IgG Ab levels (Figure 1C) were significantly lower in stunted children compared to controls. In contrast, no significant difference was observed in the geo-

Table 2: Specific IgG immune responders and geometric mean of parasite density in rural preschool Senegalese children

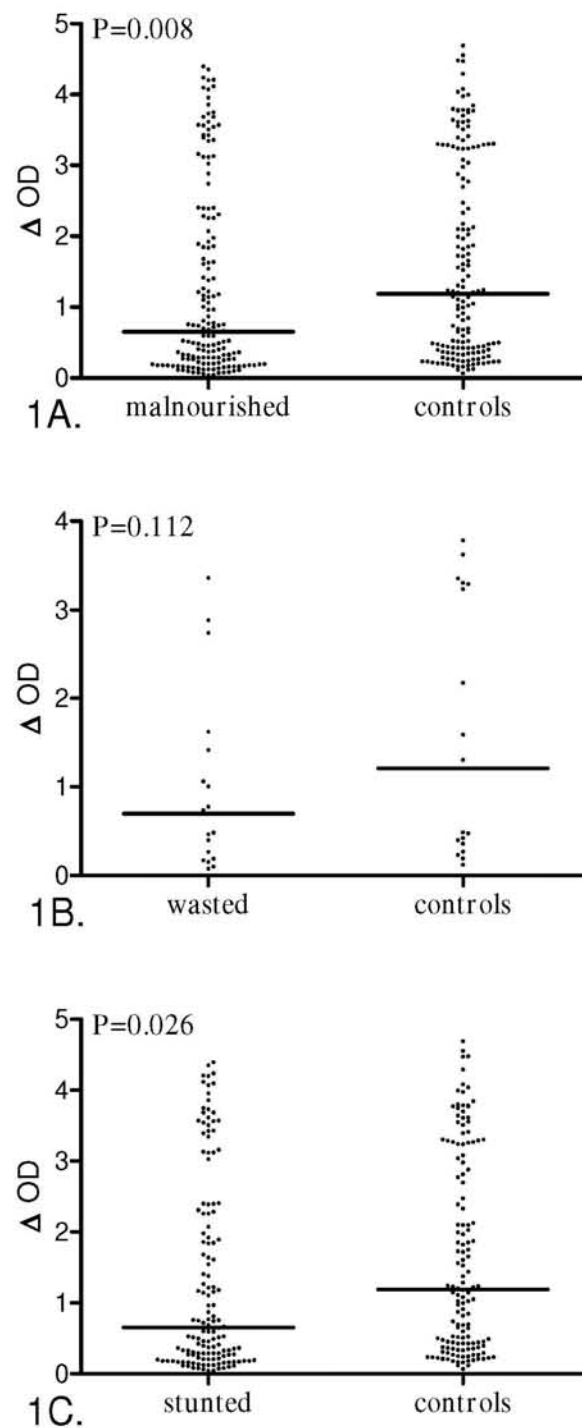
	n	Responders ^a (%)	P^b	n	Geometric mean of parasite density ^c [95% CI]	P^d
Groups of children						
Malnourished children	161	118 (73.3)	0.001	140	3.87 [2.42–6.21]	0.34
Paired controls	161	140 (87.0)		140	5.27 [3.38–8.23]	
Stunted children	142	104 (73.2)	0.001	123	4.57 [2.69–7.75]	0.56
Paired controls	142	125 (88.0)		123	5.62 [3.48–9.08]	
Wasted children	19	14 (73.7)	0.65	17	1.18 [0.83–1.66]	0.13
Paired controls	19	15 (78.9)		17	3.34 [0.91–12.23]	
Stunted children ($-2.5 < \text{HAZ} < -2.0$)	84	62 (73.8)	0.01	72	6.44 [3.01–13.80]	0.89
Paired controls	84	74 (88.1)		72	6.28 [3.23–12.22]	
Stunted children ($\text{HAZ} \leq -2.5$)	58	42 (72.4)	0.03	51	2.71 [1.35–5.43]	0.19
Paired controls	58	51 (87.9)		51	4.93 [2.43–10.02]	

^a Number of IgG anti-schizont immune responders

^b The prevalence of immune responders between groups was compared using the Mac Nemar test.

^c Assessment of parasitaemia missing for 21 pairs of children.

^d Geometric means between groups were compared using paired t-test.

**Figure 1**

Anti-*P. falciparum* IgG levels according to malnutrition in rural Senegalese preschool children. Individual ΔOD are presented and bars indicate the median value for each group. **1A**, Malnourished children (n = 161, both stunted (HAZ<-2) and wasted children (WHZ<-2)) vs controls (n = 161, neither stunted nor wasted children). **1B**, Wasted children (n = 19, WHZ<-2) vs controls (n = 19, neither stunted nor wasted children). **1C**, Stunted children (n = 142, HAZ<-2) vs controls (n = 142, neither stunted nor wasted children). Statistical significance between groups is indicated (Wilcoxon signed rank test).

metric means of parasite density (Table 2). This lower specific Ab response among stunted children remained significant when adjusting for parasite density, both in terms of prevalence of immune responders (OR = 0.37, $P = 0.01$) and IgG Ab levels ($r = -0.33$, $P = 0.009$). The decrease in anti-*P. falciparum* IgG Ab response observed among stunted children was similar to the one observed among malnourished children.

The specific anti-*P. falciparum* IgG response according to severity of stunting

The second step involved estimating whether severity of stunting influences the anti-malarial IgG response. Specific IgG Ab levels were compared between stunted children and their pair-matched controls according to mild or severe stunting (Figure 2). Among the 161 stunted children, 58 were severely stunted ($HAZ \leq -2.5$) and 84 were mildly stunted ($-2.5 < HAZ < -2.0$).

The prevalence of immune responders was significantly lower in mildly stunted children than in their controls (Table 2) whereas no significant difference in the geometric mean of parasite density was observed between the two groups.

The specific IgG Ab level was lower among mildly stunted children compared to their controls but this difference was not statistically significant (Figure 2A, $P = 0.28$). These findings were not adjusted for parasite density because all parasitaemic children among those mildly stunted and controls were immune responders leading to a complete separation of data points. Consequently, in this case the multivariate model was not applicable.

The severely stunted children appeared to be less immune responders compared to their controls (Table 2) whereas no significant difference was found in geometric means of parasite density between the two groups. However this lower prevalence of immune responders among severely stunted children was not statistically significant when adjusting for intensity of infection. A significant 55% decrease in IgG Ab level was found in severely stunted children compared to their pair-matched controls (Figure 2B, $P = 0.030$), but this decrease did not remain significant when adjusting for intensity of infection.

Discussion

The main objective of this cross-sectional study conducted in July 2003 at the onset of the rainy season was to investigate whether child malnutrition could modulate the anti-*P. falciparum* Ab response among preschool children.

The findings show that both the prevalence of immune responses and anti-*P. falciparum* IgG Ab levels were significantly lower in malnourished children than in controls

regardless of the intensity of infection. Depending on the type of malnutrition, wasted children and stunted children presented a lower specific IgG Ab response than their respective controls, but this difference was only significant in stunted children. This lower specific IgG Ab response remained significant when adjusting for intensity of infection. However, the small number of wasted children was a limitation to this study. Among stunted children, results indicated that the specific IgG response was significantly lower in severely stunted children ($HAZ \leq -2.5$) compared to their controls, while no significant difference was observed in mildly stunted children ($-2.5 < HAZ < -2.0$). However this difference among severely stunted children did not remain significant when adjusting for parasite density. Altogether, these results suggest that malnutrition, and particularly chronic malnutrition (stunting), could down-regulate anti-*P. falciparum* Ab responses in preschool children. Moreover this down-regulation appeared to be independent of the intensity of infection.

Numerous studies have investigated the relationship between child malnutrition and either malaria morbidity or intensity of infection [16,18,20,21]. In contrast, only a few studies have explored the interaction between child malnutrition and specific anti-*P. falciparum* immune responses. Moreover, results of those studies are conflicting [26-28]. Indeed, no association was found between the specific Ab level and acute or chronic undernutrition in Tanzanian children [28], whereas the anti-malarial Ab response was lower in malnourished Colombian children [26] and wasted Papua New Guinean children [15] than in well-nourished children. Several discrepancies between the studies could explain these conflicting results. First, child malnutrition was evaluated using different definitions. Indeed, in the Tanzanian study, children were classified as acutely undernourished based on reduced weight-for-age and normal height-for-age, whereas chronically undernourished children had reduced height-for-weight and normal weight-for-age. In the Colombian study, child malnutrition was defined according to the Waterlow classification (based on weight-for-age and height-for-age [39]) or the Gomez classification (based only on weight-for-age [40]). In a more recent longitudinal study in Papua New Guinea [15], children were classified as stunted, wasted or underweight according to the WHO/NCHS reference [38]. These studies also differ in the age range of the children: from 10 to 120 months in Papua New Guinea and under six years of age in the Colombian study, whereas in Tanzania, subjects were school children. It is generally agreed that active growth faltering occurs mainly during the first year of life [41].

Consequently, the influence of stunting on acquired anti-malarial immunity may be higher in the youngest children during the period of active growth faltering. In addi-

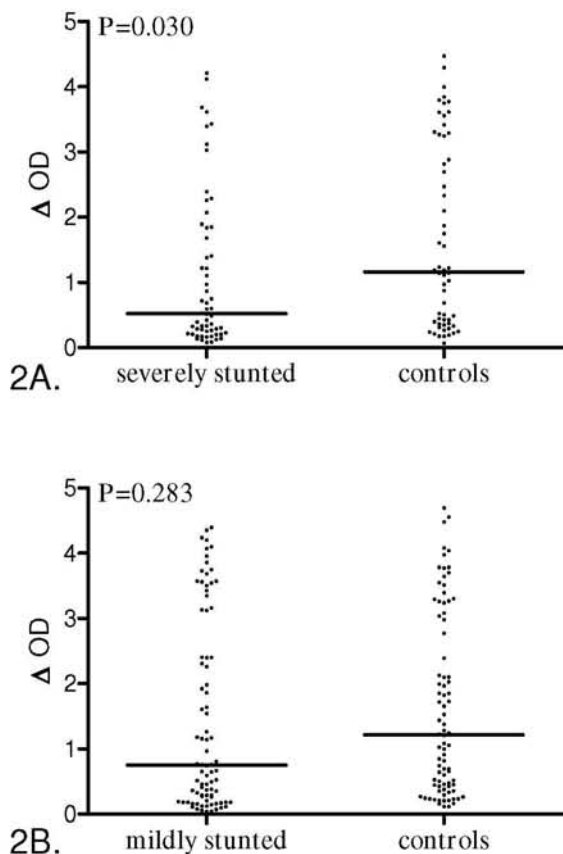


Figure 2
Anti-*P. falciparum* IgG levels according to height-for-age z-score of stunted preschool children. Individual Δ OD are presented and bars indicate the median value for each group. **2A**, Mildly stunted children ($n = 84$, $-2.5 < \text{HAZ} < -2.0$) vs controls ($n = 84$, children with HAZ and $\text{WHZ} \geq -2$). **2B**, Severely stunted children ($n = 58$, $\text{HAZ} \leq -2.5$) vs controls ($n = 58$, children with HAZ and $\text{WHZ} \geq -2$). Statistical significance between groups is indicated (Wilcoxon signed rank test).

tion, those studies were conducted in areas with differing patterns of malaria transmission. This could also explain inconsistencies in results, since acquired specific immunity is closely related to the malaria transmission pattern and the age of infected children [42,43].

The specific IgG response to schizont extracts is frequently associated with *P. falciparum* infection in terms of intensity of infection [29,44,45]. These present findings confirm the association between IgG Ab levels and intensity of infection. Indeed, a significant positive correlation between IgG Ab levels and intensity of infection was observed in all groups of children, excepted for wasted

children probably due to the low number of subjects. The lower immune response both in terms of prevalence of immune responders and IgG Ab levels observed among malnourished children remained significant when adjusting for the confounding effect of intensity of infection. In the same way, stunted children presented a significant lower anti-*P. falciparum* Ab response compared to their controls. Considering the degree of stunting, the results suggest that specific Ab response was lower among severely stunted children than in controls children, while no significant difference was found in mildly stunted children. Although this lower Ab response was not significant when adjusting for intensity of infection, these findings nevertheless suggest that severely stunting might down-regulate the anti-*P. falciparum* IgG Ab response.

While, others elements such as genetic factors, different history of malaria infection or self-medication might also explain the differences observed in specific Ab response, the present results indicate that malnutrition, and more precisely stunting, seems to be the most likely cause of down-regulation of the anti-*P. falciparum* IgG response.

Indeed, the childhood nutritional status could regulate development of the acquired protective immune response to malaria antigens. It is now widely admitted that under-nutrition during critical periods of childhood growth impairs normal development of the immune system [22]. Malnutrition causes atrophy of the thymus and other lymphoid tissues, reduced B-cell activation and complement formation. Consequently, both acquired immunity and innate host defense mechanisms are affected in malnourished children [24]. Moreover, many studies highlighted the role of micronutrients in host resistance to infection [22,23]. Deficiencies in some micronutrients such as vitamin A, zinc or iron are thought to play an important role in modulation of malaria morbidity; however, little is known about the interaction between micronutrient deficiencies and specific malaria immune responses.

Numerous studies have demonstrated the role of specific IgG isotype responses in anti-malarial protective immunity [30,46,47]. It is generally agreed that cytophilic IgG1 and IgG3 isotypes participate in specific protective immunity, whereas IgG2/IgG4 isotypes block its effect [48]. Malnutrition could regulate the balance between these protective/blocking isotype responses and consequently play a key role in the development of the protective anti-malarial immune response acquired during infection. This hypothesis is currently under investigation.

In addition, nutritional status could modulate the immune response directed to malaria antigens, in particular, to major vaccine candidates [49]. Indeed, a previous study showed that IgG Ab levels against RESA and Spf66

antigens were lower in wasted children compared to well-nourished children [15]. Therefore, future phase 2/3 vaccine trials including major candidates should take into account child nutritional status when evaluating the specific immune response acquired after immunization.

Conclusion

The main findings of this study indicate that malnutrition may modulate the overall anti-*P. falciparum* IgG Ab response. Moreover, this modulation seems to vary according to the type of malnutrition considered, since stunting, but not wasting, induced down-regulation of the IgG Ab response among preschool children. These results underscore the importance of further understanding how malnutrition influences anti-malarial immunity and subsequent malaria morbidity. With this aim, a specific protective immune response must be investigated according to malnutrition especially during anti-malarial vaccine trials. In addition, the present report highlights the need to take into account child nutritional status in epidemiological studies on malaria.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

All authors read and approved the final manuscript.

FF contributed to conception of the study, statistical analysis and interpretation of data, and drafted the manuscript. JBS contributed to conception of the study and carried out ELISA assessments. DB contributed to database management and helped to the draft manuscript.

BC and CS contributed to conception of the study and field activities. GR, KBS and FR participated in the conception and coordination of the study and helped to draft the manuscript.

The study was supported by the Gates Malaria Partnership, which receives support from the Bill and Belinda Gates Foundation, the LSHTM DFID Malaria Knowledge Programme, the «Institut de Recherche pour le Développement» and by the «Espoirs pour la santé» NGO.

Florie Fillol is supported by a scholarship from the French Ministry of Research.

Acknowledgements

We thank Anne-Marie Schacht for providing *P. falciparum* schizont extracts, Tofène Ndiaye and Amady Ndiaye for assessment of anthropometric measurements and El Hadj Ba for assessment of parasitaemia. We also thank the populations of Niakhar villages for their participation in the study.

References

1. UNICEF, WHO: **Progress for Children: A World Fit for Children statistical review.** 2007, **6**:19-24.

2. Breman JG: **The ears of the hippopotamus: manifestations, determinants, and estimates of the malaria burden.** *Am J Trop Med Hyg* 2001, **64**:1-11.
3. Caulfield LE, Richard SA, Black RE: **Undernutrition as an underlying cause of malaria morbidity and mortality in children less than five years old.** *Am J Trop Med Hyg* 2004, **71**:55-63.
4. Branca F, Ferrari M: **Impact of micronutrient deficiencies on growth: the stunting syndrome.** *Ann Nutr Metab* 2002, **46**(Suppl 1):8-17.
5. Fernando D, Wickremasinghe R, Mendis KN, Wickremasinghe AR: **Cognitive performance at school entry of children living in malaria-endemic areas of Sri Lanka.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003, **97**:161-165.
6. Martorell R, Rivera J, Kaplowitz H, Pollitt E: **Long-term consequences of growth retardation during early childhood.** In *Human growth: Basic and clinical aspects* Edited by: Hernandez M, Argente J. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V; 1992:143-149.
7. Bradley-Moore AM, Greenwood BM, Bradley AK, Kirkwood BR, Gilles HM: **Malaria chemoprophylaxis with chloroquine in young Nigerian children. III. Its effect on nutrition.** *Ann Trop Med Parasitol* 1985, **79**:575-584.
8. Snow RW, Molyneux CS, Njeru EK, Omumbo J, Nevill CG, Muniu E, Marsh K: **The effects of malaria control on nutritional status in infancy.** *Acta Trop* 1997, **65**:1-10.
9. ter Kuile FO, Terlouw DJ, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Friedman JF, Kolczak MS, Kariuki SK, Shi YP, Kwena AM, Vulule JM, et al.: **Impact of permethrin-treated bed nets on malaria and all-cause morbidity in young children in an area of intense perennial malaria transmission in western Kenya: cross-sectional survey.** *Am J Trop Med Hyg* 2003, **68**:100-107.
10. Ahmad SH, Moonis R, Shahab T, Khan HM, Jilani T: **Effect of nutritional status on total parasite count in malaria.** *Indian J Pediatr* 1985, **52**:285-287.
11. Hendrickse RG, Hasan AH, Olumide LO, Akinkunmi A: **Malaria in early childhood. An investigation of five hundred seriously ill children in whom a "clinical" diagnosis of malaria was made on admission to the children's emergency room at University College Hospital, Ibadan.** *Ann Trop Med Parasitol* 1971, **65**:1-20.
12. Murray MJ, Murray AB, Murray NJ, Murray MB: **Diet and cerebral malaria: the effect of famine and refeeding.** *Am J Clin Nutr* 1978, **31**:57-61.
13. Deen JL, Walraven GE, von Seidlein L: **Increased risk for malaria in chronically malnourished children under 5 years of age in rural Gambia.** *J Trop Pediatr* 2002, **48**:78-83.
14. Friedman JF, Kwena AM, Mirel LB, Kariuki SK, Terlouw DJ, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Nahlen BL, Shi YP, ter Kuile FO: **Malaria and nutritional status among pre-school children: results from cross-sectional surveys in western Kenya.** *Am J Trop Med Hyg* 2005, **73**:698-704.
15. Genton B, Al-Yaman F, Ginny M, Taraika J, Alpers MP: **Relation of anthropometry to malaria morbidity and immunity in Papua New Guinean children.** *Am J Clin Nutr* 1998, **68**:734-741.
16. Muller O, Garenne M, Kouyate B, Becher H: **The association between protein-energy malnutrition, malaria morbidity and all-cause mortality in West African children.** *Trop Med Int Health* 2003, **8**:507-511.
17. Nyakeriga AM, Troye-Blomberg M, Dorfman JR, Alexander ND, Back R, Kortok M, Chemtai AK, Marsh K, Williams TN: **Iron deficiency and malaria among children living on the coast of Kenya.** *J Infect Dis* 2004, **190**:439-447.
18. Snow RW, Byass P, Shenton FC, Greenwood BM: **The relationship between anthropometric measurements and measurements of iron status and susceptibility to malaria in Gambian children.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991, **85**:584-589.
19. Tshikuka JG, Gray-Donald K, Scott M, Olela KN: **Relationship of childhood protein-energy malnutrition and parasite infections in an urban African setting.** *Trop Med Int Health* 1997, **2**:374-382.
20. Fillol F, Cournil A, Boulanger D, Cisse B, Sokhna C, Targett G, Trape JF, Simondon F, Greenwood B, Simondon KB: **Influence of wasting and stunting at the onset of the rainy season on subsequent malaria morbidity among rural preschool children in Senegal.** *Am J Trop Med Hyg* 2009, **80**:202-208.
21. Mitangala Ndeba P, Hennart P, D'Alessandro U, Donnen P, Porignon D, Bisimwa Baluka G, Dramaix Wilmet M: **Protein-energy malnutrition and malaria-related morbidity in children under 59**

- months in the Kivu region of the Democratic Republic of the Congo. *Med Trop (Mars)* 2008, **68**:51-57.
22. Cunningham-Rundles S, McNeely DF, Moon A: **Mechanisms of nutrient modulation of the immune response.** *J Allergy Clin Immunol* 2005, **115**:1119-1128. quiz 1129.
 23. Field CJ, Johnson IR, Schley PD: **Nutrients and their role in host resistance to infection.** *J Leukoc Biol* 2002, **71**:16-32.
 24. Schaible UE, Kaufmann SH: **Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts.** *PLoS Med* 2007, **4**:e115.
 25. Scrimshaw NS, Taylor CE, Gordon JE: **Interactions of nutrition and infection.** *Monogr Ser World Health Organ* 1968, **57**:3-329.
 26. Dominguez-Vazquez A, Alzate-Sanchez A: **Nutritional status in children under 6 years of age and its relation to malaria and intestinal parasitism.** *Salud Publica Mex* 1990, **32**:52-63.
 27. Blair Trujillo S, Alvarez Sanchez G, Villa Restrepo A, Carmona Fonseca J, Rios Osorio L: **Nutritional status and immunoglobulin and cytokine concentrations in children with malaria.** *An Pediatr (Barc)* 2003, **58**:418-424.
 28. Carswell F, Hughes AO, Palmer RI, Higginson J, Harland PS, Meakins RH: **Nutritional status, globulin titers, and parasitic infections of two populations of Tanzanian school children.** *Am J Clin Nutr* 1981, **34**:1292-1299.
 29. Sarr JB, Remoue F, Samb B, Dia I, Guindo S, Sow C, Maiga S, Tine S, Thiam C, Schacht AM, et al.: **Evaluation of antibody response to *Plasmodium falciparum* in children according to exposure of *Anopheles gambiae* s.l or *Anopheles funestus* vectors.** *Malar J* 2007, **6**:117.
 30. Aribot G, Rogier C, Sarthou JL, Trape JF, Balde AT, Druilhe P, Rous-sillon C: **Pattern of immunoglobulin isotype response to *Plasmodium falciparum* blood-stage antigens in individuals living in a holoendemic area of Senegal (Diemo, west Africa).** *Am J Trop Med Hyg* 1996, **54**:449-457.
 31. Perraut R, Guillotte M, Drame I, Diouf B, Molez JF, Tall A, Trape JF, Mercereau-Puijalon O, Spiegel A, Garraud O: **Evaluation of anti-*Plasmodium falciparum* antibodies in Senegalese adults using different types of crude extracts from various strains of parasite.** *Microbes Infect* 2002, **4**:31-35.
 32. Robert V, Dieng H, Lochouran L, Traore SF, Trape JF, Simondon F, Fontenille D: **Malaria transmission in the rural zone of Niakhar, Senegal.** *Trop Med Int Health* 1998, **3**:667-677.
 33. Delaunay V, Etard JF, Preziosi MP, Marra A, Simondon F: **Decline of infant and child mortality rates in rural Senegal over a 37-year period (1963-1999).** *Int J Epidemiol* 2001, **30**:1286-1293.
 34. Etard JF, Le Hesran JY, Diallo A, Diallo JP, Ndiaye JL, Delaunay V: **Childhood mortality and probable causes of death using verbal autopsy in Niakhar, Senegal, 1989-2000.** *Int J Epidemiol* 2004, **33**:1286-1292.
 35. Simondon KB, Bénédicte E, Simondon F, Delaunay V, Chahnazarian A: **Seasonal variations in nutritional status of adults and children in rural Senegal.** In *Seasonality and human ecology* Edited by: Ulijaszek SJ, Strickland SS. Cambridge: Cambridge University Press; 1993:166-183.
 36. Cisse B, Sokhna C, Boulanger D, Millet J, Ba el H, Richardson K, Hallett R, Sutherland C, Simondon K, Simondon F, et al.: **Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial.** *Lancet* 2006, **367**:659-667.
 37. Lohman T, Roche A, R M: **Anthropometric Standardisation Reference Manual.** Champaign, IL: Human Kinetics Book; 1988.
 38. WHO: **Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee.** *World Health Organ Tech Rep Ser* 1995, **854**:1-452.
 39. Waterlow JC: **Classification and definition of protein-calorie malnutrition.** *Br Med J* 1972, **3**:566-569.
 40. Gomez F, Galvan RR, Cravioto J, Frenk S: **Malnutrition in infancy and childhood, with special reference to kwashiorkor.** *Adv Pediatr* 1955, **7**:131-169.
 41. Martorell R, Khan LK, Schroeder DG: **Reversibility of stunting: epidemiological findings in children from developing countries.** *Eur J Clin Nutr* 1994, **48**(Suppl 1):S45-57.
 42. Rogier C: **Childhood malaria in endemic areas: epidemiology, acquired immunity and control strategies.** *Med Trop (Mars)* 2003, **63**:449-464.
 43. Rogier C, Tall A, Diagne N, Fontenille D, Spiegel A, Trape JF: ***Plasmodium falciparum* clinical malaria: lessons from longitudinal studies in Senegal.** *Parassitologia* 1999, **41**:255-259.
 44. Omosun YO, Anumudu CI, Adoro S, Odaibo AB, Sodeinde O, Holder AA, Nwagwu M, Nwuba RI: **Variation in the relationship between anti-MSP-1(19) antibody response and age in children infected with *Plasmodium falciparum* during the dry and rainy seasons.** *Acta Trop* 2005, **95**:233-247.
 45. Jakobsen PH, Kurtzhals JA, Riley EM, Hviid L, Theander TG, Morris-Jones S, Jensen JB, Bayoumi RA, Ridley RG, Greenwood BM: **Antibody responses to Rhoptry-Associated Protein-1 (RAP-1) of *Plasmodium falciparum* parasites in humans from areas of different malaria endemicity.** *Parasite Immunol* 1997, **19**:387-393.
 46. Aucan C, Traore Y, Tall F, Nacro B, Traore-Leroux T, Fumoux F, Rihet P: **High immunoglobulin G2 (IgG2) and low IgG4 levels are associated with human resistance to *Plasmodium falciparum* malaria.** *Infect Immun* 2000, **68**:1252-1258.
 47. Taylor RR, Smith DB, Robinson VJ, McBride JS, Riley EM: **Human antibody response to *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 2 is serogroup specific and predominantly of the immunoglobulin G3 subclass.** *Infect Immun* 1995, **63**:4382-4388.
 48. Beeson JG, Osier FH, Engwerda CR: **Recent insights into humoral and cellular immune responses against malaria.** *Trends Parasitol* 2008, **24**:578-584.
 49. Plebanski M, Locke E, Kazura JW, Coppel RL: **Malaria vaccines: into a mirror, darkly?** *Trends Parasitol* 2008, **24**:532-536.

Publish with **BioMed Central** and every scientist can read your work free of charge

"BioMed Central will be the most significant development for disseminating the results of biomedical research in our lifetime."

Sir Paul Nurse, Cancer Research UK

Your research papers will be:

- available free of charge to the entire biomedical community
- peer reviewed and published immediately upon acceptance
- cited in PubMed and archived on PubMed Central
- yours — you keep the copyright

Submit your manuscript here:
http://www.biomedcentral.com/info/publishing_adv.asp



4.2 Résumé et discussion de l'étude

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'impact de la malnutrition des enfants sur la réponse immune spécifique anti-*P. falciparum*. Cette étude a été réalisée dans le cadre de l'essai clinique évaluant l'efficacité du TPI en zone de transmission saisonnière. Les données analysées (anthropométriques et sérologiques) ont été collectées en juillet 2003, lors de l'inclusion des enfants dans le suivi longitudinal mis en place pour observer l'apparition d'un effet rebond suite à l'arrêt du TPI. L'ensemble des enfants souffrant d'émaciation (n=19) ou de retard de croissance staturale (n=142) en juillet 2003 ont été sélectionnés et appariés à des enfants témoins, également inclus dans l'étude rebond, et ne souffrant ni d'émaciation ni de retard de croissance staturale. Au total 322 enfants ont été inclus dans l'analyse. Afin d'obtenir une image globale de la réponse immune anti-*P. falciparum*, les taux d'anticorps (IgG) dirigés contre les antigènes totaux de schizonte ont été dosés dans les sera des enfants par la technique ELISA.

La prévalence de répondeurs immuns ainsi que les taux d'anticorps IgG anti-*P. falciparum* sont significativement plus faibles chez les enfants malnutris comparés à leurs témoins appariés, et ce quelque soit l'intensité d'infection des enfants.

Si l'on considère les deux types de malnutrition des enfants (émaciation ou retard de croissance staturale), la réponse IgG spécifique est diminuée de 33 % chez les enfants retardés en taille par rapport à celle de leurs témoins appariés, indépendamment de l'intensité d'infection des enfants. Les enfants émaciés présentent également des taux d'IgG plus faibles que leurs témoins, cependant cette différence n'est pas significative.

La prévalence de répondeurs immuns est plus faible chez les enfants émaciés et chez les enfants retardés en taille en comparaison à leurs témoins respectifs. Toutefois cette plus faible prévalence est significative seulement pour les enfants atteints de retard de croissance staturale.

Lorsque l'on classe les enfants selon leur degré de sévérité de retard de croissance staturale (seuil fixé à -2,5 Z-Scores), on constate que la réponse anticorps anti-schizonte est diminuée aussi bien chez les enfants souffrant de retard de croissance staturale sévère que modérée. Toutefois les taux d'IgG anti-schizonte sont bien plus faibles chez les enfants sévèrement retardés en taille. Lorsque la diminution des taux d'IgG est ajustée sur l'intensité d'infection, la différence entre les enfants sévèrement retardés en taille et leurs témoins n'est plus significative.

L'ensemble de ces résultats montre que la réponse globale IgG anti-*P. falciparum* est fortement diminuée chez les enfants malnutris quelque soit l'intensité d'infection. Si l'on considère les enfants selon leur type de malnutrition, seule la diminution observée chez les enfants retardés en taille est significative.

Les résultats confirment par ailleurs la corrélation existant entre taux d'IgG anti-schizonte et intensité d'infection.

L'une des principales limites de l'étude réside dans le faible nombre d'enfants émaciés, ce qui pourrait expliquer que la diminution de la réponse anticorps anti-schizonte observée chez les enfants émaciés ne soit pas significative.

Les résultats des études précédentes portant sur la relation entre malnutrition et réponse immune spécifique anti-*P. falciparum* sont contradictoires et s'opposent aux résultats de la présente étude. En effet, alors que deux études ne montrèrent aucune association entre malnutrition et réponse anticorps anti-*P. falciparum*, une première étude colombienne indiqua que les enfants souffrant de malnutrition présentaient une plus faible réponse anticorps. Par opposition à cette première étude colombienne, une deuxième étude, au début des années 2000, mit en évidence une augmentation de la réponse anticorps IgM anti-schizonte chez les enfants infectés par *Plasmodium (falciparum* ou *vivax*) et souffrant de malnutrition. Enfin, une étude menée en Papouasie Nouvelle Guinée révéla que la réponse IgG anti-schizonte était diminuée chez les enfants émaciés en comparaison à celle des enfants bien-portants.

Cependant, comme nous l'avons évoqué dans le paragraphe 3.3.2 du chapitre 3 de la partie « Etat des connaissances », un certain nombre de différences méthodologiques peut en partie expliquer l'origine de cette discordance. Ces différences concernent principalement la définition de la malnutrition, l'âge des enfants inclus, la transmission du paludisme, les isotypes des Ac dosés, ainsi que les antigènes plasmodiaux utilisés.

L'étude la plus comparable à la notre est celle conduite en Papouasie Nouvelle-Guinée à la fin des années 1990. Lors de cette étude, la malnutrition a été déterminée par comparaison avec la population de référence NCHS. Ainsi, l'émaciation et le retard de croissance staturale étaient définis pour un Z-Score des indices poids/taille et taille/âge inférieur à -2. Cependant les enfants inclus étaient âgés de 10 mois à 10 ans.

Or, la détérioration du statut en taille des enfants aboutissant au retard de croissance staturale survient principalement dans la première année de vie. Par conséquent, l'influence du retard de croissance staturale sur l'acquisition de l'immunité pourrait être plus importante chez les jeunes enfants.

En considérant d'une part, que l'immunité spécifique est acquise dès les premières infections (donc dès la première année de vie) et d'autre part que le retard de croissance staturale entrave l'acquisition de cette immunité chez les plus jeunes enfants, la question se pose alors de savoir si le retard de croissance staturale pourrait conditionner la réponse immune spécifique à *P. falciparum* sur le long terme.

Cette étude met en évidence une diminution de la réponse anticorps spécifique anti-*P. falciparum* chez les enfants malnutris et en particulier chez les enfants souffrant de retard de croissance staturale. Ces résultats suggèrent que la malnutrition des enfants induit une modulation de la réponse immune globale contre *P. falciparum* illustré par une diminution du taux d'IgG anti-schizonte chez les enfants malnutris. Cependant, cette

étude ne permet pas de conclure quant à l'impact de la malnutrition sur la réponse protectrice dirigée contre *P. falciparum* (ce point sera discuté dans la troisième partie « Synthèse et Discussion générale »).

→ Résultats principaux

- Les taux d'IgG anti-schizonte sont significativement plus faibles chez les enfants malnutris par rapport aux enfants bien-portants, indépendamment de l'intensité d'infection.
- Si l'on considère le type de malnutrition : les taux d'IgG anti-schizonte sont significativement plus faibles chez les enfants retardés en taille mais non chez les enfants émaciés.
- Parmi les enfants retardés en taille, les taux d'IgG anti-schizonte semblent plus faibles chez les enfants sévèrement retardés en taille en comparaison à leur témoin, ce qui n'est pas le cas des enfants modérément retardés en taille.

→ Interprétation

- La malnutrition des enfants semble diminuer la réponse IgG spécifique à *P. falciparum*.
- Cette modulation semble dépendre du type et de la sévérité de la malnutrition.
- Ces résultats supportent l'hypothèse du comportement des mères dans l'explication de l'apparente protection des enfants émaciés.

→ Hypothèses

- Bien que la réponse immune spécifique globale semble diminuée chez les enfants malnutris, qu'en est-il de la réponse protectrice anti-*P. falciparum* ?
- La malnutrition diminue-t-elle l'acquisition de la réponse immune aux candidats vaccins ?
- Quelles sont chez les enfants retardés en taille, les déficiences en micronutriments qui pourraient moduler la réponse Ac spécifique ?
- Les enfants retardés en taille présentent des taux d'IgG anti-*P. falciparum* plus faibles que les enfants de taille normale, alors qu'aucune association n'a été mise en évidence entre retard de croissance en taille et risque de survenue de crise palustre. Mais qu'en est-il, du risque de survenue des crises palustres sévères ? Cette diminution de la réponse immune n'exposerait-elle pas les enfants retardés en taille à un risque plus important de développer un accès grave ?
- Le processus du retard de croissance staturale débutant dès la première année de vie pourrait-il conditionner la réponse immune spécifique à *P. falciparum* de façon irréversible ?

Troisième partie : Synthèse et discussion générale

L'objectif principal de cette thèse était d'étudier la relation entre malnutrition et paludisme chez les enfants de moins de cinq ans vivant en zone de transmission saisonnière de *P. falciparum*. Cette étude s'est inscrite dans le cadre des projets de l'unité de recherche « Epidémiologie et Prévention » qui visaient à identifier les facteurs environnementaux influençant la prédisposition et l'exposition aux maladies nutritionnelles et infectieuses et à évaluer dans quelle mesure ils conditionnent l'efficacité des interventions de santé. Ainsi, comprendre la réciprocity entre paludisme et malnutrition permettrait d'optimiser les interventions pour lutter conjointement contre ces deux fléaux.

L'étude de l'interaction malnutrition/paludisme s'avère complexe par les aspects multifactoriels de chacune de ces deux affections. En effet, la malnutrition et le paludisme sont régis par de nombreux déterminants d'ordre social, épidémiologique ou biologique.

Par conséquent, du fait de nombreux facteurs de confusion, l'évaluation de l'effet propre de la malnutrition sur le paludisme, et vice versa, nécessite d'avoir recours à une méthodologie appropriée.

La divergence des résultats bibliographiques et l'absence de consensus à ce sujet illustrent la difficulté d'étudier cette relation. De plus, les différences méthodologiques entre les études concernant la transmission du paludisme dans la zone d'étude, l'âge des enfants, la conception (transversal/longitudinal), et le suivi de la morbidité rendent difficile la comparaison des résultats.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés à partir de données principalement issues d'un essai clinique randomisé visant à évaluer l'efficacité du TPI en zone de transmission saisonnière chez des enfants de moins de cinq (Cissé *et al.*, 2006; Ntab *et al.*, 2007).

Grâce au suivi longitudinal prospectif de la morbidité palustre et aux quatre enquêtes anthropométriques transversales au début et à la fin des deux saisons de transmission, cet essai a permis d'étudier la relation réciproque entre la malnutrition et le paludisme.

Les résultats obtenus sont confortés par les nombreux points forts que présente la conception de l'intervention, tels que la qualité des informations démographiques de l'échantillon, la sélection aléatoire de l'échantillon, le suivi longitudinal de la morbidité palustre au cours de deux saisons de transmission, la présence d'équipes de santé et de mesureurs expérimentés...

Le TPI administré aux enfants a permis de réduire de 86% l'incidence des crises palustres pendant la saison des pluies, et eut un impact bénéfique sur le gain de poids des enfants à l'issue de la saison de transmission.

Bien qu'aucune différence du statut en taille n'ait été mise en évidence entre les deux groupes d'intervention, une importante diminution du retard de croissance staturale a été observée chez tous les enfants inclus dans l'étude : les enfants traités comme ceux ayant reçu un placebo. Cela suggère donc que le TPI n'est pas responsable de cette diminution du retard de croissance staturale.

La prise en charge active et rapide des crises et des suspicions de crises palustres a-t-elle permis une amélioration du statut en taille des enfants ?

L'hypothèse qui a fait l'objet de la première étude menée dans le cadre de cette thèse, sous-tend que l'amélioration considérable du statut en taille des enfants pourrait être liée à la détection active et au traitement rapide des crises et des suspicions de crises palustres dont ont bénéficiés les deux groupes d'intervention.

Pour vérifier cette hypothèse nous avons comparé, neuf mois après la fin de l'intervention, le statut en taille des enfants inclus dans l'essai TPI à celui d'enfants non-inclus résidants dans les mêmes villages.

Bien que les enfants ayant participé à l'essai TPI présentent un indice HAZ légèrement supérieur aux enfants non-inclus dans l'essai, cette différence n'est pas significative et ne permet donc pas de confirmer notre hypothèse selon laquelle la prise en charge rapide et adaptée des crises palustres permet de réduire la prévalence du retard de croissance staturale.

Cependant, à notre connaissance, une telle amélioration du statut en taille sur une si courte durée (15 mois) n'a jamais été rapportée auparavant.

De plus, si l'on considère l'indice HAZ moyen des enfants âgés entre 1 et 5 ans résidant dans les 11 villages de l'étude, on constate que celui-ci est resté plutôt stable entre 1984 et 2002 (de $-1,49 \pm 1,2$ à $-1,54 \pm 1,1$), puis a connu une nette augmentation entre 2002 et 2003 (de $-1,54 \pm 1,1$ à $-1,15 \pm 1,00$). En 2004, l'indice HAZ moyen des enfants entre 1 et 5 ans ($-1,22 \pm 1,05$) est légèrement plus faible qu'en 2003 ($p = 0,14$) et il se détériore entre 2004 et 2009 (de $-1,22 \pm 1,05$ à $-1,31 \pm 1,07$). Ces observations suggèrent fortement que la très nette augmentation du HAZ moyen des enfants résidant dans ces 11 villages entre 2002 et 2003 était un phénomène temporaire qui n'a pas perduré après l'intervention.

L'implémentation de l'intervention TPI dans ces 11 villages semble alors être la cause la plus probable pouvant expliquer l'amélioration du statut en taille des enfants.

Les résultats de notre analyse indiquent que le statut en taille des enfants ayant participé à l'essai TPI n'est pas supérieur à celui des enfants non-inclus dans l'intervention.

Cela suggère que l'impact de l'intervention TPI a pu bénéficier de façon non-spécifique à l'ensemble des enfants vivant dans les villages inclus.

Cet effet bénéfique de l'intervention peut s'expliquer par l'amélioration de l'accès aux soins mis en place lors de l'intervention. En effet, une équipe médicale passait toutes les semaines dans les villages pour visiter les enfants inclus dans l'essai. Il est évident que l'équipe médicale ne pouvait refuser d'examiner des enfants malades non-inclus dans l'essai mais vivant dans les mêmes concessions ou les mêmes villages que les enfants inclus. Par ailleurs, pendant toute la durée de l'étude des médecins qualifiés étaient présents dans les dispensaires afin de prendre en charge les enfants qui se présentaient pour une suspicion de crise palustre.

Mais il faut également souligner que cette intervention a pu permettre une sensibilisation des mères à l'état de santé de leur enfant. Et bien que les recommandations aient été faites aux mères des enfants inclus, il est tout à fait probable que celles-ci aient pu être « diffusées » aux mères des enfants non-inclus vivant dans la même concession ou dans les concessions voisines.

Il est également possible que l'intervention ait eu un impact non mesuré sur la morbidité infectieuse plus générale des enfants. En effet, à titre d'exemple, les enfants présentant une anémie sévère recevaient automatiquement un traitement prophylactique associé à une supplémentation en fer. Mais on peut également envisager que la présence d'équipes médicales aient permis de réduire la morbidité liée aux diarrhées ou aux infections respiratoires par la prise en charge adaptée des enfants aux dispensaires. De plus, une étude, conduite parmi les enfants de l'essai TPI ayant reçu un traitement antipaludique lors du suivi en 2003, a révélé que les combinaisons thérapeutiques incluant l'artesunate avaient permis de diminuer considérablement les niveaux d'infections bilharziennes par *Schistosoma haematobium* (Boulanger *et al.*, 2007). Or, il a été montré que les infections bilharziennes chroniques augmentent également le risque d'anémie et de retard de croissance staturale (King *et al.*, 2008). Par ailleurs, on ne peut pas exclure, un éventuel impact de la surveillance et du traitement potentiel d'autres infections sur la croissance des enfants lors de la période 2002-2003.

Selon le cadre conceptuel des causes de malnutrition proposé par l'UNICEF (figure 1), les déterminants sont hiérarchisés en trois niveaux : sociétal, familial et individuel. L'influence des facteurs à un niveau se répercute sur les autres niveaux.

En sensibilisant les mères à l'état de santé de leur enfant et en facilitant l'accès aux soins, l'essai TPI a eu un effet sur les causes sous-jacentes (au niveau familial) et immédiates (au niveau individuel) (figure 12).

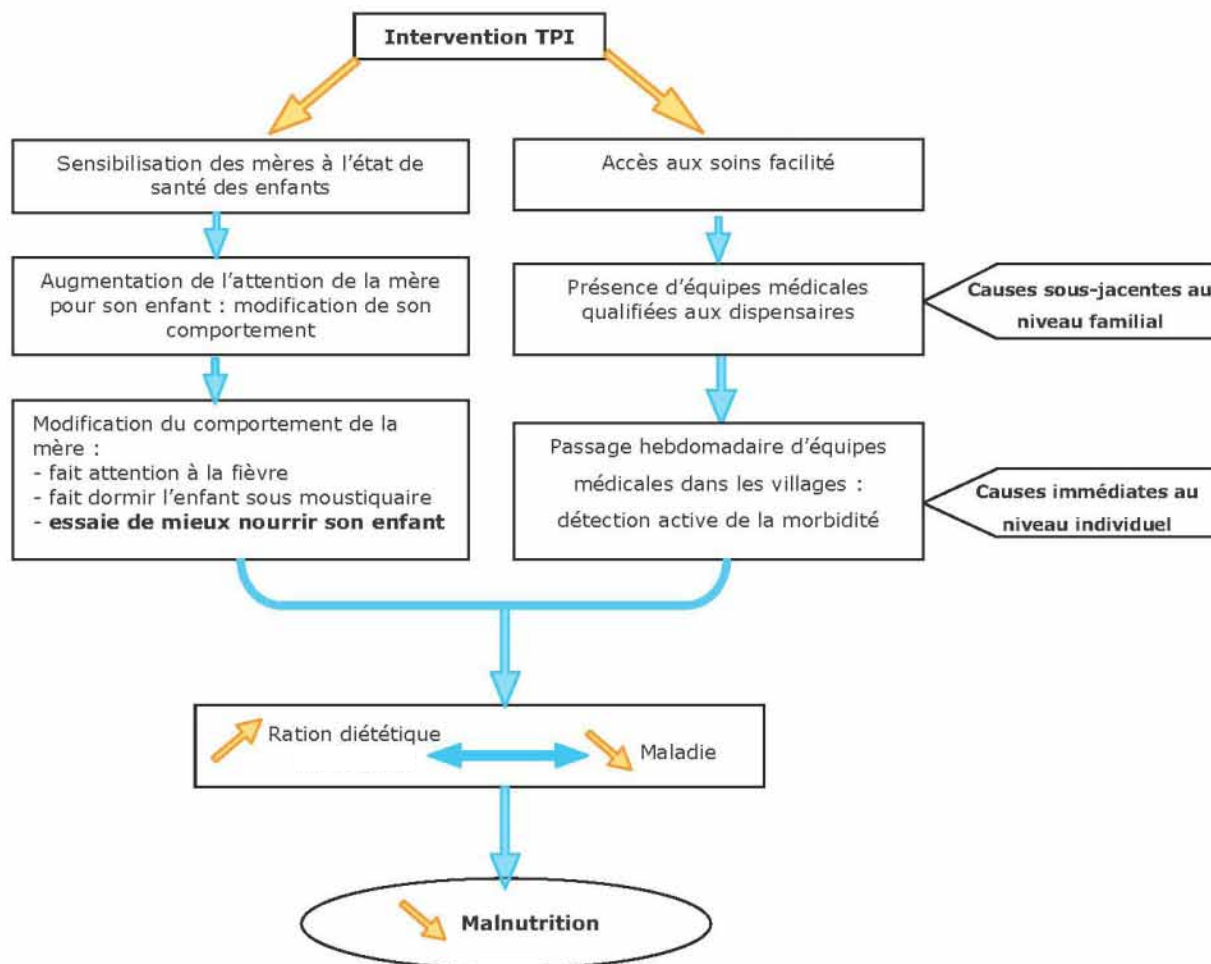


Figure 12: Effet de l'intervention TPI sur les déterminants de la malnutrition

Il semble donc que l'impact de l'intervention TPI sur la croissance en taille des enfants soit lié à son aspect multifactoriel, qui a permis d'agir à la fois de façon spécifique sur la morbidité palustre et de façon non-spécifique sur les déterminants de la malnutrition.

Il apparaît aujourd'hui de façon plus évidente qu'il est nécessaire de prendre en compte cet aspect pluridisciplinaire dans les interventions de santé.

A titre d'exemple, supplémenter les enfants en un seul micronutriment pour réduire leur carence n'est pas suffisant et montre une efficacité limitée (King *et al.*, 2008). Pour pouvoir réduire la malnutrition, il semble primordial d'agir sur tous les facteurs, directs et indirects, de considérer l'aspect nutritionnel mais également l'aspect infectieux.

De plus, d'après nos résultats, l'effet bénéfique de la mise en place de l'étude semble avoir « rayonné » à l'ensemble des enfants vivant dans les villages de l'intervention.

Actuellement, la lutte contre le paludisme se fonde sur des programmes intégrés impliquant à la fois l'administration du TPI, la mise en place de moustiquaires imprégnées, des pulvérisations intra-domiciliaires...

Le statut en taille est considéré comme un indice nutritionnel plutôt stable, reflétant une malnutrition chronique. Toutefois, nos résultats montrent que l'indice HAZ peut varier de façon conséquente sur une courte période. Cela suggère que cet indice pourrait être un

critère d'évaluation de l'efficacité globale des interventions pluridisciplinaires actuellement mises en place pour combattre le paludisme.

Quel est l'impact de la malnutrition sur le risque de survenue d'une crise palustre ?

Dans ce contexte favorable d'amélioration du statut en taille des enfants, nous nous sommes interrogés sur l'impact que pourrait avoir la malnutrition en début de saison des pluies sur le risque de développer une crise palustre.

A notre connaissance, seule une étude prospective menée en Gambie a exploré l'impact de la malnutrition en début d'hivernage sur la morbidité palustre chez des enfants de moins de cinq ans vivant dans une zone de transmission modérée et saisonnière du paludisme (Deen *et al.*, 2002). Cette étude présente un suivi hebdomadaire de la morbidité palustre et une saison de transmission similaire à celle de notre zone d'étude. Elle apparaît donc comme la seule étude directement comparable à la notre. Les résultats de cette étude ont montré que les enfants retardés en taille présentaient un risque supérieur de survenue de crise palustre comparés aux enfants de taille normale. Ces résultats sont en contradiction avec ceux de notre étude qui ne montrent pas d'association entre le retard de croissance en taille et les crises palustres. Toutefois, les résultats de l'étude gambienne, indiquent une tendance à un moindre risque de crise palustre chez les enfants souffrant d'émaciation (Risque Relatif= 0,87, IC95% : 0,69 – 1,10). Cette tendance abonde dans le sens de notre résultat principal.

Bien que comparables en termes de transmission du paludisme et d'âge des enfants, plusieurs aspects méthodologiques divergent entre l'étude gambienne et celle que nous avons conduite au Sénégal.

Premièrement, contrairement à notre étude dont l'état nutritionnel des enfants a été mesuré en juillet, au début de la saison de transmission, l'enquête anthropométrique de l'étude gambienne a été conduite au mois de mai. Il est donc possible que l'état nutritionnel des enfants ait évolué entre le mois de mai et le mois de juillet.

Deuxièmement, la prévalence d'émaciation dans cette zone de Gambie se révèle très élevée : 161 enfants sur les 487 inclus sont émaciés (33%). Cette prévalence, définie selon les mêmes critères que les nôtres, à savoir WHZ < -2 Z-Scores, est nettement supérieure à celle estimée dans notre étude où seulement 3,1% des enfants souffrent d'émaciation.

Troisièmement, cette étude a été réalisée au sein de 18 villages dans une zone rurale de Gambie. Cependant, le facteur « village » n'a pas été considéré comme un facteur de confusion, laissant supposer que l'état nutritionnel et l'exposition au paludisme sont les mêmes quelque soit le village. Or, il est fort probable que l'exposition des enfants au paludisme varie d'un village à un autre. Il aurait donc été nécessaire de prendre en compte l'effet du village dans les analyses.

Dernièrement, les enfants présentant une crise palustre lors du suivi hebdomadaire étaient traités après confirmation parasitologique. Cependant, dans l'analyse des résultats, les crises palustres sont considérées soit comme une variable binomiale soit comme une variable quantitative. Dans le cas du dénombrement de crises palustres, il est important de prendre en compte la durée thérapeutique du traitement administré, pendant laquelle en général, si une crise apparaît elle est considérée comme un échec thérapeutique et non comme une nouvelle crise. Dans l'analyse statistique de l'étude, il n'est fait mention d'aucune période d'exclusion des enfants traités.

D'un point de vue méthodologique, l'analyse que nous avons réalisée afin d'estimer l'impact de la malnutrition sur la morbidité palustre présente l'avantage de prendre en compte l'hétérogénéité des enfants vivant dans des hameaux différents, que ce soit en terme d'exposition au paludisme ou en terme de différences de conditions de vie (résidence facile d'accès, proche d'un dispensaire, transports facilités, accès à l'eau...). A notre connaissance, aucune des études antérieures visant à évaluer l'influence de la malnutrition sur la prédisposition au paludisme n'a pris en compte l'hétérogénéité de l'exposition des enfants au paludisme.

La diminution du risque de crise palustre chez les enfants émaciés est un résultat inattendu, bien que l'analyse statistique de notre étude soit soutenue par un certain nombre d'atouts méthodologiques. Deux hypothèses ont été envisagées afin d'expliquer ce résultat.

La première sous-tend que les mères des enfants émaciés les aient « surprotégé ». Cela suppose que les mères aient détecté que leur enfant souffrait d'émaciation. Cette hypothèse est supportée par les résultats concernant l'impact de l'intervention TPI sur la croissance en taille des enfants. En effet, si l'on considère que l'intervention TPI a engendré, de façon générale et non-spécifique, une sensibilisation des mères à l'état de santé de leurs enfants, il est cohérent de supposer que les mères aient pu avoir un comportement différent envers les enfants présentant un mauvais état nutritionnel. On peut alors s'interroger sur la restriction de ce comportement aux enfants émaciés ? Les mères n'auraient-elles pas aussi agi différemment avec leurs enfants retardés en taille ? Une étude conduite dans la zone de Niakhar par notre équipe a montré que les mères prolongeaient l'allaitement des enfants qu'elles trouvaient « petits et faibles » et que ces enfants étaient réellement plus malnutris que les autres (Simondon *et al.*, 2001). Cependant, peu d'études se sont intéressées à l'aptitude des mères à déceler la malnutrition de leur enfant. De plus, les seules études concernant ce sujet ont été conduites chez les enfants de moins de 3 ans, en relation avec les pratiques d'allaitement des mères (Marquis *et al.*, 1997; Simondon *et al.*, 1998; Simondon *et al.*, 2001).

Dans le cadre de notre étude, on peut supposer que chez les enfants de moins de cinq ans, les mères sont plus sensibles à la maigreur (ou émaciation) de leur enfant qu'à leur retard de taille. Par conséquent elles seraient plus susceptibles de changer leur

comportement vis-à-vis de leur enfant, si celui-ci est maigre plutôt que s'il est « petit ». Celles-ci pourraient être plus attentives à ce que l'enfant dorme bien sous moustiquaire, ne laisseraient pas l'enfant jouer dehors une fois la nuit tombée, éviteraient de garder « des eaux stagnantes » dans la concession (propos recueillis, à la question « que faites vous en général pour protéger votre enfant du paludisme ? » lors d'une enquête anthropométrique dans le cadre du projet « Prévention Saisonnière du Paludisme » au Sénégal en 2008).

Bien que fortement probable, cette hypothèse concernant le comportement des mères n'a pu être vérifiée dans le cadre de cette thèse. La vérification d'une telle hypothèse nécessite des études plus orientée vers l'aspect anthropologique de la relation-mère enfant et de la capacité de la mère à déceler la malnutrition de son enfant. De plus, ce genre d'étude observationnelle en relation avec le comportement des individus se complique souvent par certains biais non-spécifiques tels l'effet Hawthorne qui postule que les individus modifient leur comportement dès lors qu'ils se savent « observés » (Wickstrom *et al.*, 2000).

Un effet biologique, induit par la malnutrition, peut-il expliquer la modification du risque de survenue d'une crise palustre?

La deuxième hypothèse proposée pour expliquer l'apparente protection des enfants émaciés contre le paludisme suggère la médiation par un effet biologique.

La déficience en certains micronutriments des enfants malnutris pourrait agir directement sur le développement du parasite en inhibant sa prolifération, empêchant ainsi la parasitémie de s'élever au dessus du seuil pyrogène déclencheur de l'accès palustre.

Le fer mais également les antioxydants, tels que la vitamine E, la vitamine C ou encore le β -carotène ont été suggérés comme étant impliqués dans cette régulation du développement de *P. falciparum* (Shankar, 2000). La carence de ces micronutriments génèrerait un milieu défavorable voire toxique au développement du parasite (Levander *et al.*, 1993; Prentice *et al.*, 2007).

On peut également supposer que les déficiences en micronutriments ont un effet indirect sur la morbidité palustre, par l'intermédiaire d'une modulation de la réponse immune. Il semblerait, par exemple, qu'en zone d'endémie palustre, la supplémentation en vitamine A d'enfants malnutris diminue la morbidité palustre par l'intermédiaire d'une modulation de la réponse immune cellulaire spécifique à *P. falciparum* (Shankar *et al.*, 1999).

L'étude de l'influence de la malnutrition sur la morbidité palustre menée dans le cadre de cette thèse révèle également qu'aucune association n'a été mise en évidence entre le retard de croissance staturale et le risque de crise palustre, bien que, parmi les enfants parasités, ceux retardés en taille présentaient une charge parasitaire plus importante que les enfants de taille normale. Il semblerait alors que le retard de croissance staturale n'influence pas la morbidité clinique mais plutôt la charge infectieuse des enfants.

Cependant, la charge parasitaire des enfants a été mesurée lors d'un passage transversal au début de la saison de transmission, il est donc impossible de supposer un quelconque lien de causalité entre le retard de croissance staturale et la charge parasitaire : est-ce parce que les enfants sont retardés en taille qu'ils ont une plus forte parasitémie ou bien est-ce parce que les enfants ont une forte parasitémie qu'ils sont retardés en taille ?

On pourrait supposer que le portage chronique du parasite puisse en partie être impliqué dans le processus du retard de croissance staturale. En effet, il a été montré qu'en réponse à l'infection par *P. falciparum*, les lymphocytes T produisent rapidement certaines cytokines pro-inflammatoires dont le Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) et l'Interféron γ (Hensmann *et al.*, 2001). Or, le TNF- α paraît pouvoir interférer avec l'axe GH/IGF1 (growth hormone/ insuline-like growth factor) qui joue un rôle capital dans le processus de croissance staturale des enfants. Le TNF- α inhiberait la production hépatique d'IGF-1 par le biais d'une diminution de la réponse de l'hépatocyte à l'hormone de croissance (De Benedetti *et al.*, 1999), créant ainsi une sorte d'état de résistance relative à la GH. Cette diminution des taux circulants d'IGF1 ralentirait la croissance staturale des enfants. Il a également été suggéré que le TNF- α pourrait agir directement sur la sécrétion de la GH par l'hypophyse, mais les résultats des études à ce sujet sont contradictoires.

Une étude conduite au Kenya a révélé que la production de TNF- α en réponse à *P. falciparum* était associée à un plus faible indice de masse corporelle chez les jeunes adolescents, suggérant que même si les adolescents semblaient moins enclins aux crises palustres, le portage asymptomatique du parasite pouvait détériorer l'état nutritionnel des individus (Friedman *et al.*, 2003). Le processus de croissance staturale est très intense chez les enfants de moins de cinq ans, il serait donc plausible que le TNF- α et/ou les cytokines pro-inflammatoires, de façon plus générale, sécrétés en réponse au portage chronique du parasite, engendre le ralentissement de la croissance staturale des enfants.

La charge parasitaire élevée des enfants retardés en taille ne semble pas avoir d'impact direct sur le risque de développer une crise palustre puisqu'aucune association n'a été observée entre retard de croissance staturale et crise palustre dans notre étude. Ce résultat pourrait suggérer que le retard de croissance staturale influence plutôt la parasitémie que l'évolution clinique de l'infection vers un accès palustre simple. Mais, on peut également supposer que cette malnutrition chronique, en maintenant une forte charge parasitaire, pourrait conditionner l'évolution de l'infection directement vers une forme compliquée du paludisme telle que l'anémie sévère ou le neuropaludisme. Une étude menée au Kenya dans une zone de transmission saisonnière du paludisme a rapporté que les enfants retardés en taille et infectés par *P. falciparum* souffraient d'anémie plus sévère que les enfants de taille normale (Verhoef *et al.*, 2002). Cette étude a également montré que le phénomène d'inflammation (estimé par dosage de la protéine C-réactive) et le besoin en fer (estimé par le dosage du récepteur soluble de la transferrine : sTfR) étaient plus élevés chez les enfants retardés en taille. Cependant, les

résultats n'ont pas clairement mis en évidence de lien entre le risque d'infection palustre et le retard de croissance staturale. Les auteurs suggèrent que les carences nutritionnelles induisant le retard de croissance en taille diminueraient l'immunité de l'hôte, le rendant plus sensible aux effets de l'infection palustre : inflammation, besoin en fer et diminution du taux d'hémoglobine. Par conséquent le retard de croissance staturale déterminerait la sévérité de l'anémie associée au paludisme, qui s'avère être l'une des deux formes sévères de l'infection.

La modification du risque de survenue d'une crise palustre chez les enfants malnutris est-elle liée à une modulation de la réponse immunitaire spécifique à *P. falciparum* ?

L'étude de la réponse immunitaire spécifique à *P. falciparum* des enfants ayant participé à l'essai TPI en fonction de leur statut nutritionnel nous est apparu comme une approche nécessaire pour expliquer l'effet différent selon le type de malnutrition sur la prédisposition palustre.

A ce jour, très peu d'études ont porté sur l'impact de la malnutrition sur la réponse immune anti-*P. falciparum* (Carswell *et al.*, 1981; Dominguez-Vazquez *et al.*, 1990; Genton *et al.*, 1998; Blair *et al.*, 2002) et leurs résultats sont contradictoires.

Pour étudier l'influence de la malnutrition sur la réponse immune anti-*P. falciparum*, nous avons mesuré les taux d'immunoglobulines G totales (IgG) dirigées contre un extrait d'antigènes (Ag) totaux de schizonte. Cette analyse représente la première étape pour étudier la réponse immune spécifique à *P. falciparum* en fonction de la malnutrition car elle permet d'avoir une image globale de la réponse immune anti-palustre (Aribot *et al.*, 1996; Perraut *et al.*, 2002).

Le résultat principal de notre étude montre, qu'au début de la saison de transmission, les enfants malnutris présentent un taux d'Ac IgG spécifique à *P. falciparum* significativement plus bas que les enfants bien-portants, et ce indépendamment de l'intensité d'infection. Si l'on considère le type de malnutrition, cette baisse du taux d'Ac est observée chez les enfants retardés en taille et chez les enfants émaciés. Toutefois elle n'est significative que pour les enfants retardés en taille (probablement par manque de puissance statistique). La réponse IgG a ensuite été observée en fonction de la sévérité du retard de croissance staturale. Bien que non-significative, la diminution du taux d'IgG spécifique chez les enfants sévèrement retardés en taille est plus importante que chez les enfants modérément retardés en taille. La sévérité du retard de croissance staturale semble donc diminuer plus fortement la réponse Ac spécifique à *P. falciparum*.

Les résultats de cette analyse ne semblent pas expliquer nos constatations épidémiologiques concernant l'impact de la malnutrition sur le risque de crise palustre (figure 13).

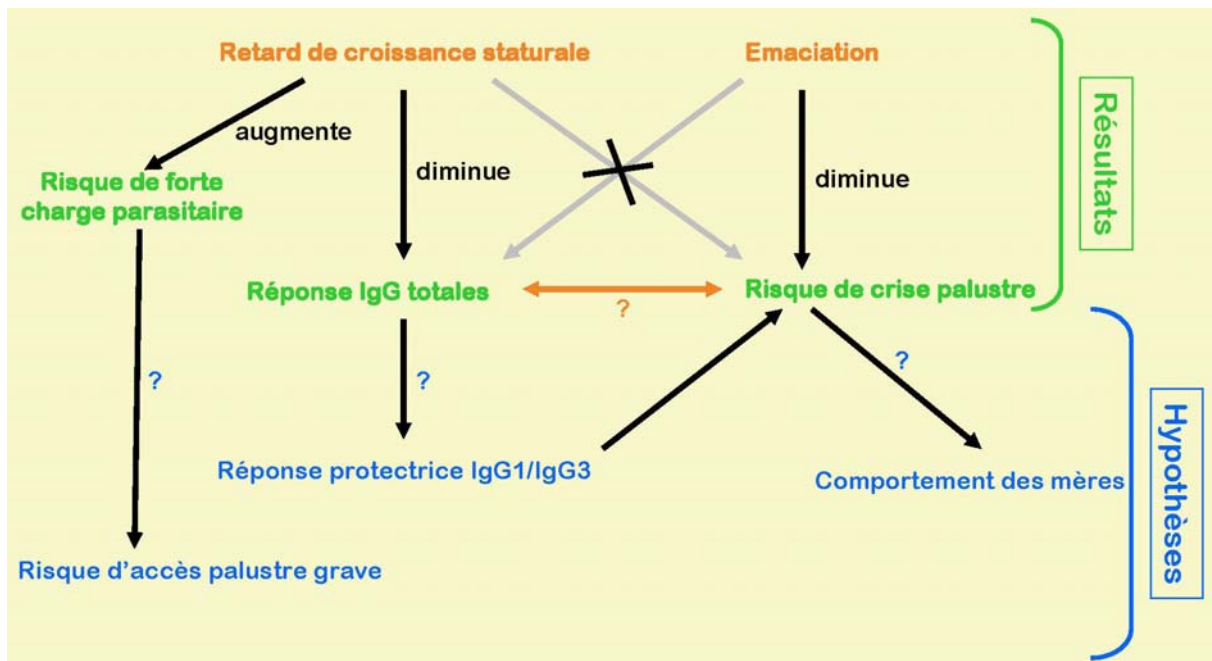


Figure 13: Schéma récapitulatif des résultats et hypothèses

Notre hypothèse selon laquelle la protection des enfants émaciés est expliquée par une modulation de la réponse immune spécifique n'est pas confirmée par notre approche immunologique. En effet, on s'attendait à observer un taux d'IgG plus élevé chez les enfants émaciés. Or, on constate que chez tous les enfants malnutris (retardés en taille ou émaciés) la réponse Ac spécifique est plus faible que chez les enfants ne souffrant pas de malnutrition. Cependant cette plus faible réponse Ac n'est pas significative chez les enfants émaciés. Notons ici que cette approche immunologique représente une toute première étape impliquant seulement le dosage des IgG, et non d'autres isotypes, réalisé à partir d'un seul extrait antigénique particulier et non à partir d'antigènes « protecteurs » contre le paludisme.

L'hypothèse du comportement des mères tendant à surprotéger leurs enfants s'ils sont émaciés semble ici la plus probable pour expliquer la diminution du risque de crise palustre chez ces enfants.

Ainsi, notre étude immuno-épidémiologique représente la première étape dans l'étude de la relation entre malnutrition et réponse spécifique anti-*P. falciparum* et les résultats obtenus soulèvent d'autres interrogations.

En effet, la réponse immune globale IgG observée dans cette analyse ne permet pas de conclure quant à la réponse protectrice spécifique à *P. falciparum*. De nombreuses études ont montré que cette réponse immune protectrice dépend fortement des isotypes IgG (Taylor *et al.*, 1995; Aribot *et al.*, 1996; Aucan *et al.*, 2000). Alors que les isotypes cytophiliques IgG1 et IgG3 participent à la réponse protectrice contre *P. falciparum*, les isotypes IgG2 et IgG4 bloquent l'effet de cette réponse et sont plutôt associés à une augmentation de la morbidité (Taylor *et al.*, 1998). Il semblerait donc que le rapport : isotypes « protecteurs »/isotypes « bloquant », soit déterminant dans le déroulement de la réponse immune protectrice contre *P. falciparum*.

La malnutrition pourrait moduler ce rapport entre ces isotypes et par conséquent jouer un rôle dans le développement de la réponse immunitaire protectrice.

Bien que le taux d'IgG totales semble plus bas chez les enfants émaciés, on pourrait observer que le rapport entre isotypes IgG indique une plus forte proportion d'IgG1 et d'IgG3, et par conséquent oriente la réponse immunitaire vers une réponse de type protectrice. Or, la synthèse et la sécrétion d'Ac est essentiellement sous contrôle de la sécrétion spécifique de cytokines. Parmi les nombreuses cytokines intervenant dans la réaction immunitaire, les interleukines sont indispensables à la différenciation des lymphocytes et à l'orientation de la réponse immunitaire (cellulaire ou humorale).

Par exemple, en 2000, une nouvelle interleukine a été identifiée : l'IL-21 (Leonard *et al.*, 2008). Cette cytokine semble impliquée dans de nombreuses voies de signalisation de la réponse immunitaire (figure 14).

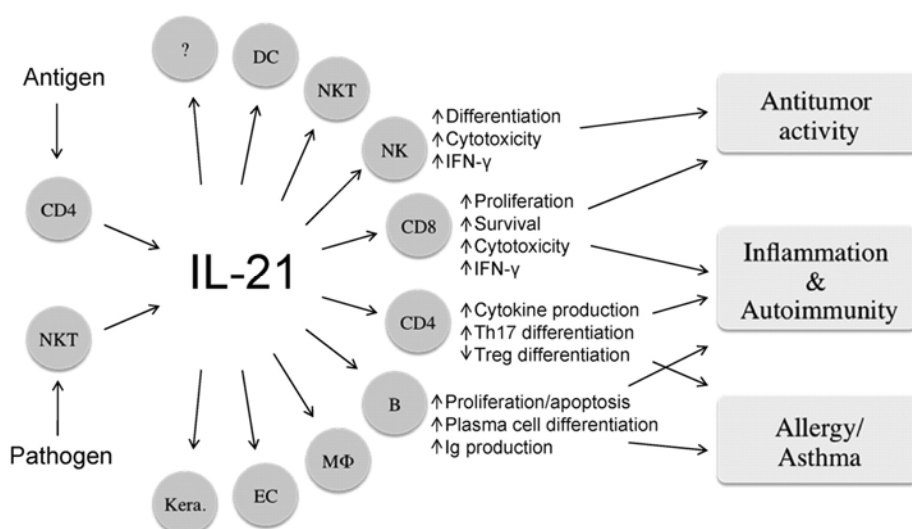


Figure 14: Implication de l'interleukine 21 dans la réponse immunitaire.

Source: Leonard *et al.*, J Leucok Biol, 2008

Une étude a montré, en 2004, que l'IL21 est impliquée dans la commutation isotypique des lymphocytes B pour la production d'IgG1 et IgG3 (Pene *et al.*, 2004). Dans ce sens, une étude récente, menée au Gabon chez des enfants porteur de *P. falciparum*, montre que les taux d'IL-21 sont corrélés aux taux d'IgG1 et d'IgG3 chez les enfants présentant une crise grave de paludisme. Les résultats indiquent par ailleurs que l'IL-21 est également corrélée de façon positive au taux d'hémoglobine chez les enfants de moins de cinq ans (Mewono *et al.*, 2008).

Si l'on considère les résultats de ces études, on pourrait, par exemple, supposer que l'émaciation, par l'intermédiaire de déficiences en micronutriments, augmente l'expression de l'IL-21 qui à son tour active la commutation isotypique des lymphocytes B pour la production d'IgG1 et d'IgG3.

La régulation de l'expression des gènes résulte de mécanismes et de voies de signalisation complexes impliquant de l'interaction de nombreux facteurs. Parmi ces facteurs, les récepteurs de l'acide rétinoïque sont des régulateurs transcriptionnels

déficience en fer, en vitamine A et en zinc soient plus fréquentes chez les enfants présentant un retard de croissance staturale (Branca *et al.*, 2002), aucune étude n'a, à ce jour, identifié de micronutriment spécifiquement impliqué dans un seul des deux types de malnutrition. Il s'avère donc difficile de proposer actuellement un mécanisme biologique basé uniquement sur la déficience d'un micronutriment spécifique à un type de malnutrition. Cette relation micronutriment – type de malnutrition – immunité spécifique pourrait représenter une nouvelle piste de recherche issue des résultats de cette thèse.

Dans notre étude, la diminution du taux d'IgG anti-*P. falciparum* chez les enfants présentant un retard de croissance staturale ne traduit pas le risque de ces enfants de développer une crise palustre. En effet, aucune association n'a été mise en évidence entre le retard de croissance staturale et le risque de développer une crise palustre (figure 13).

Si les enfants retardés en taille présentent un plus faible taux d'IgG spécifique sans toutefois avoir un risque plus important de développer une crise palustre, cela sous-tend l'hypothèse que le dysfonctionnement de la réponse immunitaire, chez ces enfants, affecterait plus particulièrement la réponse à médiation cellulaire.

Une étude a montré que la déficience en fer chez des enfants âgés de 6 mois à 3 ans était associée à de plus faibles taux d'IL-2 (Thibault *et al.*, 1993), suggérant une diminution de la réponse à médiation cellulaire. Une autre étude a également mis en évidence qu'en réponse à l'infection par *P. falciparum* le taux d'IL-10 (cytokine anti-inflammatoire) n'est pas maintenu chez les jeunes enfants, ne permettant pas d'inhiber le TNF- α , cytokine pyrogène et inflammatoire (Nussenblatt *et al.*, 2001). Cette étude suggère que ce mécanisme contribuerait à aggraver l'anémie des plus jeunes enfants. Par ailleurs, une autre étude a montré que le taux de TNF- α semblait impliqué dans la pathogénicité de l'anémie palustre sévère (Issifou *et al.*, 2003).

La déficience en fer et l'anémie sont souvent rencontrées chez les enfants souffrant de retard de croissance staturale.

On peut alors supposer que l'altération de la réponse à médiation cellulaire chez les enfants retardés en taille et souffrant de déficience en fer, associée à de forts taux de TNF- α pourraient contribuer au développement de l'anémie palustre sévère. Cette hypothèse est soutenue par les résultats d'une étude qui indiquent que le retard de croissance staturale pourrait déterminer la gravité de l'anémie palustre (Verhoef *et al.*, 2002). Néanmoins, soulignons ici une fois de plus que notre première approche immunologique concernait uniquement l'étude d'un extrait antigénique total (schizonte) de *P. falciparum* qui ne s'avère pas présenter de caractère « protecteur ».

Par conséquent, l'étude des relations entre malnutrition et réponses Ac spécifiques à d'autres Ags (notamment les Ags « protecteurs » tels que les candidats vaccins) apparaît être une piste de recherche intéressante dans le futur.

L'altération de la réponse immunitaire spécifique à *P. falciparum* chez les enfants malnutris nécessite donc bien d'être considérée dans les interventions mises en place pour lutter contre le paludisme, aussi bien dans les essais thérapeutiques visant à étudier l'efficacité des TPI que dans les essais vaccinaux.

Concernant le TPI, certaines études ont montré que l'efficacité des traitements antipaludiques pourrait dépendre de l'immunité acquise des individus (Enevold *et al.*, 2007; Nahum *et al.*, 2009). En effet, les individus ayant acquis un certain degré d'immunité répondraient mieux au traitement antipaludique que les individus ne possédant pas ou peu d'immunité acquise. Puisque la réponse immunitaire anti-*P. falciparum* est plus faible chez les enfants malnutris, on pourrait alors supposer que l'efficacité du traitement soit alors conditionnée par la malnutrition.

Une étude récente conduite au nord du Ghana, chez des enfants de moins de deux ans, a révélé que l'efficacité du TPI était diminuée chez les enfants souffrant de malnutrition (Danquah *et al.*, 2009). Dans l'essai TPI décrit dans cette thèse, nous avons observé dans le groupe des enfants traités que les indices nutritionnels des enfants ayant développé une crise de paludisme étaient différents des enfants n'ayant pas fait de crise. Les enfants traités ayant développé une crise palustre au cours du suivi présentaient initialement un indice HAZ moyen plus faible que les enfants traités n'ayant pas fait de crise (-1,65 vs. -1,36 ; P=0,17).

De façon surprenante, mais en accord avec les résultats de notre enquête, les enfants traités ayant développé une crise palustre au cours du suivi avaient un indice WHZ supérieur à celui des enfants n'ayant pas développé de crise (-0,24 vs. -0,32 ; P=0,63).

Toutefois ces différences ne sont pas significatives, probablement liées au fait que le traitement a été très efficace et que le faible nombre d'accès palustres dans le groupe des enfants traités (n=39) ne confère pas suffisamment de puissance statistique. Ainsi, on pourrait envisager que la réponse au traitement puisse être différente selon le type de malnutrition dont souffrent les enfants : l'efficacité du TPI pourrait être diminuée chez les enfants retardés en taille, mais augmentée chez les enfants émaciés. Ces suppositions suscitent alors de nouvelles interrogations quant à la modulation de la réponse immune anti-*P. falciparum* lors de l'administration des traitements en fonction de la malnutrition des enfants.

Bien que non-significatifs, ces résultats suggèrent la nécessité de prendre en compte l'état nutritionnel des enfants dans l'évaluation de la réponse au traitement préventif intermittent. Ils confirment également que le type de malnutrition pourrait influencer différemment l'efficacité du TPI chez les enfants malnutris.

A l'heure actuelle, l'un des axes de recherche majeur dans la lutte contre le paludisme concerne l'étude des candidats vaccins.

Eu égard de nos résultats, la question se pose de savoir si l'acquisition de la réponse immunitaire vaccinale contre *P. falciparum* pourrait être différente en fonction de l'état nutritionnel des enfants.

Une étude conduite en Papouaise Nouvelle Guinée a montré que le taux d'IgG dirigées contre les antigènes RESA et Spf66 était plus faible chez les enfants émaciés (Genton *et al.*, 1998).

A notre connaissance, seule cette étude a évalué la réponse immune des enfants à des candidats vaccins contre *P. falciparum* en fonction de leur état nutritionnel.

Il serait donc intéressant, à partir des sera disponibles de notre enquête, de mesurer la réponse IgG et isotypes IgG dirigées contre les candidats vaccins majeurs (CSP, MSP1-3, AMA.1, RESA, etc) en fonction de l'état nutritionnel des enfants.

On pourrait par exemple supposer que le taux d'IgG et d'IgG1/IgG3 dirigés contre les candidats vaccinaux soient diminués chez les enfants malnutris (en particulier chez ceux retardés en taille) et/ou que le taux d'IgG2/IgG4 soit augmenté. Cela impliquerait par conséquent un effet direct de la malnutrition sur la diminution de la production d'Ac « protecteurs » spécifiques contre les Ags vaccins. Ainsi, la malnutrition pourrait moduler le développement des réponses immunes spécifiques induites par la vaccination.

Afin d'explorer cette hypothèse, une étude est actuellement en cours dans le nord du Sénégal (programme PAL-Fleuve : UCAD, EPLS, IRD, Institut Pasteur de Dakar). Cette étude a pour but d'évaluer les réponses immunes cellulaires (dosages des cytokines) et Ac (IgG et isotypes) dirigées contre des candidats vaccins majeurs (CSP, AMA.1, MSP1). Un des paramètres analysés sera les variations observées en fonction de l'état nutritionnel des enfants.

Un second effet de la malnutrition sur la réponse immune vaccinale peut être soulevé. En effet, nous pouvons également émettre l'hypothèse que la nature et le maintien de la mémoire immunitaire induite après vaccination soit différente selon l'état nutritionnel des enfants. Toutefois les études concernant l'impact de l'état nutritionnel sur la réponse vaccinale sont contradictoires, certaines ne montrent aucun effet de la malnutrition sur la réponse immune vaccinale (Powell, 1982 ; Malafaia *et al.*, 2009) alors que d'autre mettent en évidence une diminution de la réponse vaccinale chez les enfants malnutris (Greenwood *et al.*, 1986 ; Lakshmi *et al.*, 2000 ; Moore *et al.*, 2003).

Un vaccin doit induire une reconnaissance des antigènes par le système immunitaire suivi par une stimulation des cellules effectrices spécifiques et/ou une production d'Ac spécifiques aux antigènes vaccinaux. Mais le vaccin doit également être capable d'induire le développement d'une mémoire immunitaire. Cette mémoire immunitaire est la capacité du système immunitaire à réagir de façon adaptée, plus rapidement et plus efficacement lors de contacts ultérieurs avec l'antigène spécifique suite à l'infection. La mémoire immunitaire repose sur l'existence des lymphocytes B et T mémoire, issus de l'expansion clonale due au premier contact avec l'antigène. On pourrait alors envisager que l'intensité et la nature de la réponse immune, induite par la vaccination, ne soit pas directement affaiblie par la malnutrition, mais que la mémoire immunitaire des enfants malnutris soit altérée et ne leur permette pas de répondre efficacement et de façon adaptée lors d'une infection par *P. falciparum* après vaccination.

Comme exemple de ces propos, une étude vaccinale contre la coqueluche au Sénégal a montré que le risque d'échec vaccinal augmentait de 43% par incrémentation d'une unité de l'indice HAZ des enfants recevant le vaccin coqueluche à germe entier (Lacombe *et al.*, 2004). Par ailleurs, aucune association n'a été mise en évidence entre l'insuffisance pondérale et le risque d'échec vaccinal. Cette étude soutient l'hypothèse que le type et la sévérité de la malnutrition pourraient avoir des effets différents sur la réponse vaccinale.

En conclusion, comme le reflète les travaux menés dans le cadre de cette thèse, l'étude de l'interaction entre malnutrition et paludisme se révèle complexe par les nombreux facteurs qui régissent chacune de ces deux affections. Par ailleurs, d'un point de vue éthique, il est inconcevable d'étudier l'impact de la malnutrition sur le paludisme, et vice-versa, sans venir en aide aux enfants et leur procurer les soins dont ils ont besoin. Par conséquent, il est exclu dans la réalité de constituer des groupes contrôles qui ne bénéficieraient d'aucun service médical. Il est donc impossible d'observer la croissance des enfants sans traiter leurs crises de paludisme, ou inversement observer le risque de crise palustre d'enfants sévèrement malnutris sans prendre en charge leur malnutrition.

La première étude menée dans le cadre de cette thèse indique qu'il est possible, au travers d'interventions, d'améliorer rapidement et de façon importante la croissance en taille des enfants de moins de cinq ans. Par ailleurs, elle suggère d'une part, que l'amélioration de la croissance semble liée, non pas à l'effet propre du TPI, mais à la sensibilisation et à l'ensemble des services médicaux apportés par l'essai et d'autre part, que cet effet non-spécifique lié à l'intervention pourrait avoir bénéficié à l'ensemble des enfants des villages inclus. La croissance staturale (reflétée par l'indice HAZ) pourrait alors être un critère pertinent pour évaluer l'efficacité des interventions pluridisciplinaires actuellement mises en place dans la lutte contre le paludisme.

Les deuxième et troisième objectifs de ces travaux de thèse ont mis en évidence l'importance de la malnutrition dans l'étude de la prédisposition des enfants au paludisme. Les résultats indiquent la nécessité de prendre en compte la malnutrition, et plus particulièrement le type de malnutrition, lors des interventions de lutte contre le paludisme.

Notre étude immuno-épidémiologique représente le point de départ d'une thématique encore inexplorée, centrée sur l'influence de la malnutrition sur la réponse immune spécifique à *P. falciparum*.

A l'heure actuelle, de nombreux espoirs sont fondés sur le développement d'un vaccin contre le paludisme. La prise en compte de la malnutrition et de son influence sur l'acquisition d'une immunité spécifique se révèle capitale dans la mise au point d'un tel vaccin.

Références bibliographiques

- al-Yaman F., Genton B., Taraika J., et al.** (1997). Cellular immunity to merozoite surface protein 2 (FC27 and 3D7) in Papua New Guinean children. Temporal variation and relation to clinical and parasitological status. *Parasite Immunol.* 19 (5):p.207-14.
- Al Serouri A.W., Grantham-McGregor S.M., Greenwood B., et al.** (2000). Impact of asymptomatic malaria parasitaemia on cognitive function and school achievement of schoolchildren in the Yemen Republic. *Parasitology.* 121:p.337-345.
- Alonso P.L., Lindsay S.W., Armstrong Schellenberg J.R., et al.** (1993). A malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, west Africa. 6. The impact of the interventions on mortality and morbidity from malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 87 Suppl 2:p.37-44.
- Alonso P.L., Sacarlal J., Aponte J.J., et al.** (2004). Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial. *Lancet.* 364 (9443):p.1411-20.
- Alonso P.L., Sacarlal J., Aponte J.J., et al.** (2005). Duration of protection with RTS,S/AS02A malaria vaccine in prevention of *Plasmodium falciparum* disease in Mozambican children: single-blind extended follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet.* 366 (9502):p.2012-8.
- Amexo M., Tolhurst R., Barnish G., et al.** (2004). Malaria misdiagnosis: effects on the poor and vulnerable. *Lancet.* 364 (9448):p.1896-8.
- Angulo I. and Fresno M.** (2002). Cytokines in the pathogenesis of and protection against malaria. *Clin Diagn Lab Immunol.* 9 (6):p.1145-52.
- Aribot G., Rogier C., Sarthou J.L., et al.** (1996). Pattern of immunoglobulin isotype response to *Plasmodium falciparum* blood-stage antigens in individuals living in a holoendemic area of Senegal (Dielmo, west Africa). *Am J Trop Med Hyg.* 54 (5):p.449-57.
- Ashworth A., Bell R., James W.P., et al.** (1968). Calorie requirements of children recovering from protein-calorie malnutrition. *Lancet.* 2 (7568):p.600-3.
- Aucan C., Traore Y., Tall F., et al.** (2000). High immunoglobulin G2 (IgG2) and low IgG4 levels are associated with human resistance to *Plasmodium falciparum* malaria. *Infect Immun.* 68 (3):p.1252-8.
- Aucan C., Traore Y., Fumoux F., et al.** (2001). Familial correlation of immunoglobulin G subclass responses to *Plasmodium falciparum* antigens in Burkina Faso. *Infect Immun.* 69 (2):p.996-1001.
- Baird J.K.** (1995). Host Age as a Determinant of Naturally Acquired-Immunity to *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Today.* 11 (3):p.105-111.
- Bassat Q., Guinovart C., Sigauque B., et al.** (2008). Malaria in rural Mozambique. Part II: Children admitted to hospital. *Malar J.* 26; 7: 37.
- Beeson J.G. and Brown G.V.** (2002). Pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria: the roles of parasite adhesion and antigenic variation. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 59 (2):p.258-271.
- Beisel W.R.** (1977). Resume of Discussion Concerning Nutritional Consequences of Infection. *Am J Clin Nutr.* 30 (8):p.1294-1300.
- Beisel W.R.** (1977). Impact of infection on nutritional status: definition of the problem and objectives of the Workshop. *Am J Clin Nutr.* 30 (8):p.1206-10.
- Bejon P., Lusingu J., Olotu A., et al.** (2008). Efficacy of RTS,S/AS01E vaccine against malaria in children 5 to 17 months of age. *N Engl J Med.* 359 (24):p.2521-32.
- Black R.E., Allen L.H., Bhutta Z.A., et al.** (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet.* 371 (9608):p.243-60.
- Blair S., Carmona J. and Correa A.** (2002). [Malaria in children: links between nutrition and immunity]. *Rev Panam Salud Publica.* 11 (1):p.5-14.
- Bojang K.A., Milligan P.J., Pinder M., et al.** (2001). Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune adult men in The Gambia: a randomised trial. *Lancet.* 358 (9297):p.1927-34.
- Boulanger D., Dieng Y., Cisse B., et al.** (2007). Antischistosomal efficacy of artesunate combination therapies administered as curative treatments for malaria attacks. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 101 (2):p.113-6.
- Branca F. and Ferrari M.** (2002). Impact of micronutrient deficiencies on growth: the stunting syndrome. *Ann Nutr Metab.* 46 Suppl 1:p.8-17.
- Breman J.G. and Holloway C.N.** (2007). Malaria surveillance counts. *Am J Trop Med Hyg.* 77 (6 Suppl):p.36-47.
- Briand V., Cottrell G., Massougboji A., et al.** (2007). Intermittent preventive treatment for the prevention of malaria during pregnancy in high transmission areas. *Malar J.* 4; 6: 160.
- Briend A.** (1990). Is diarrhoea a major cause of malnutrition among the under-fives in developing countries? A review of available evidence. *Eur J Clin Nutr.* 44 (9):p.611-28.
- Brock J.F. and Autret M.** (1952). Kwashiorkor in Africa. *Bull World Health Organ.* 5 (1):p.1-71.
- Bruce-Chwatt L.J.** (1952). Malaria in African infants and children in Southern Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol.* 46 (2):p.173-200.
- Butte N., Lopez-Alarcon M. and Garza C.** (2002). Nutrient adequacy of exclusive breast feeding for the term infant during the first six months of life. Geneva, World Health Organization.

- Carnevale P., Robert V., Boudin C., et al.** (1988). [Control of malaria using mosquito nets impregnated with pyrethroids in Burkina Faso]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*. 81 (5):p.832-46.
- Carswell F., Hughes A.O., Palmer R.I., et al.** (1981). Nutritional status, globulin titers, and parasitic infections of two populations of Tanzanian school children. *Am J Clin Nutr*. 34 (7):p.1292-9.
- Caulfield L.E., Bentley M.E. and Ahmed S.** (1996). Is prolonged breastfeeding associated with malnutrition? Evidence from nineteen demographic and health surveys. *Int J Epidemiol*, 25 (4):p.693-703.
- Caulfield L.E., de Onis M., Blossner M., et al.** (2004). Undernutrition as an underlying cause of child deaths associated with diarrhea, pneumonia, malaria, and measles. *Am J Clin Nutr*. 80 (1):p.193-8.
- Caulfield L.E., Richard S.A. and Black R.E.** (2004). Undernutrition as an underlying cause of malaria morbidity and mortality in children less than five years old. *Am J Trop Med Hyg*. 71 (2 Suppl):p.55-63.
- Chandra R.K.** (1979). Nutritional deficiency and susceptibility to infection. *Bulletin of the World Health Organization*. 57 (2):p.167-177.
- Chandra R.K. and Kumari S.** (1994). Nutrition and immunity: an overview. *J Nutr*. 124 (8 Suppl):p.1433S-1435S.
- Chandra R.K.** (1999). Nutrition and immunology: from the clinic to cellular biology and back again. *Proc Nutr Soc*. 58 (3):p.681-3.
- Chandre F., Darriet F., Manguin S., et al.** (1999). Pyrethroid cross resistance spectrum among populations of *Anopheles gambiae* s.s. from Cote d'Ivoire. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 15 (1):p.53-59.
- Chang S.M., Walker S.P., Grantham-McGregor S., et al.** (2002). Early childhood stunting and later behaviour and school achievement. *J Child Psychol Psychiatry*. 43 (6):p.775-83.
- Chevalier P., Sevilla R., Zalles L., et al.** (1996). Effect of zinc supplementation on nutritional immune deficiency. *Nutrition Research*. 16 (3):p.369-379.
- Christophides G.K.** (2005). Transgenic mosquitoes and malaria transmission. *Cell Microbiol*. 7 (3):p.325-33.
- Cippitelli M., Ye J., Viggiano V., et al.** (1996). Retinoic acid-induced transcriptional modulation of the human interferon-gamma promoter. *J Biol Chem*. 271 (43):p.26783-93.
- Cisse B., Sokhna C., Boulanger D., et al.** (2006). Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial. *Lancet*. 367 (9511):p.659-67.
- Cot M. and Deloron P.** (2003). Malaria prevention strategies. *Br Med Bull*. 67:p.137-48.
- Cunningham-Rundles S., McNeely D.F. and Moon A.** (2005). Mechanisms of nutrient modulation of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 115 (6):p.1119-28; quiz 1129.
- D'Alessandro U., Olaleye B.O., McGuire W., et al.** (1995). Mortality and morbidity from malaria in Gambian children after introduction of an impregnated bednet programme. *Lancet*. 345 (8948):p.479-83.
- Danquah I., Dietz E., Zanger P., et al.** (2009). Reduced efficacy of intermittent preventive treatment of malaria in malnourished children. *Antimicrob Agents Chemother*. 53 (5):p.1753-9.
- de Almeida C.A.N., Ricco R.G., Nogueira M.P.C., et al.** (1999). Comparison of four anthropometric methods of nutritional assessment and evaluation of the agreement between two reference populations. *Journal of Tropical Pediatrics*. 45 (6):p.345-350.
- De Benedetti F. and Martini A.** (1999). Cytokines et retard statural au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'enfant. *Archives De Pédiatrie*. 6 (5):p.499-502.
- de Onis M., Garza C. and Habicht J.P.** (1997). Time for a new growth reference. *Pediatrics*. 100 (5):p.E8.
- de Onis M., Frongillo E.A. and Blossner M.** (2000). Is malnutrition declining? An analysis of changes in levels of child malnutrition since 1980. *Bull World Health Organ*. 78 (10):p.1222-33.
- de Onis M., Onyango A.W., Borghi E., et al.** (2006). Comparison of the World Health Organization (WHO) Child Growth Standards and the National Center for Health Statistics/WHO international growth reference: implications for child health programmes. *Public Health Nutr*. 9 (7):p.942-7.
- Deen J.L., Walraven G.E. and von Seidlein L.** (2002). Increased risk for malaria in chronically malnourished children under 5 years of age in rural Gambia. *J Trop Pediatr*. 48 (2):p.78-83.
- Delaunay V.** (1998). La situation démographique et épidémiologique dans la zone de Niakhar au Sénégal. Projet population et santé à Niakhar. Dakar, ORSTOM.
- Delaunay V., Etard J.F., Preziosi M.P., et al.** (2001). Decline of infant and child mortality rates in rural Senegal over a 37-year period (1963-1999). *Int J Epidemiol*, 30 (6):p.1286-1293.
- Delaunay V., Mara A., Levi P., et al.** (2002). Niakhar DSS Senegal. Population and health in developing countries : 1. Population, health and survival at INDEPTH sites. . Ottawa, INDEPTH: p. 279 - 285.
- Delley V., Bouvier P., Breslow N., et al.** (2000). What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali. *Trop Med Int Health*. 5 (6):p.404-12.

- Deloron P., Dumont N., Nyongabo T., et al.** (1994). Immunologic and biochemical alterations in severe falciparum malaria: relation to neurological symptoms and outcome. *Clin Infect Dis.* 19 (3):p.480-5.
- Delpeuch F. and Salem G.** (2002). [Nutrition and development in the era of globalization: new challenges for public health]. *Sante.* 12 (1):p.5-8.
- Dewey K.G., Peerson J.M., Brown K.H., et al.** (1995). Growth of breast-fed infants deviates from current reference data: a pooled analysis of US, Canadian, and European data sets. World Health Organization Working Group on Infant Growth. *Pediatrics.* 96 (3 Pt 1):p.495-503.
- DHS** (2007). Demographic and Health Surveys, <http://www.measuredhs.com/accesssurveys/>
- Diaz J.R., de las Cagigas A. and Rodriguez R.** (2003). Micronutrient deficiencies in developing and affluent countries. *Eur J Clin Nutr.* 57:p.S70-S72.
- Dicko A., Sagara I., Sissoko M.S., et al.** (2008). Impact of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine targeting the transmission season on the incidence of clinical malaria in children in Mali. *Malar J.* 8; 7: 123.
- Doherty C.P.** (2007). Host-pathogen interactions: The role of iron. *J Nutr.* 137 (5):p.1341-1344.
- Dominguez-Vazquez A. and Alzate-Sanchez A.** (1990). [Nutritional status in children under 6 years of age and its relation to malaria and intestinal parasitism]. *Salud Publica Mex.* 32 (1):p.52-63.
- Duffy P.E. and Fried M.** (2005). Malaria in the pregnant woman. *Curr Top Microbiol Immunol.* 295:p.169-200.
- Edington G.M.** (1954). Cerebral malaria in the Gold Coast African: four autopsy reports. *Ann Trop Med Parasitol.* 48 (3):p.300-6.
- Edington G.M.** (1967). Pathology of malaria in West Africa. *Br Med J.* 1 (5542):p.715-8.
- Ehrhardt S., Burchard G.D., Mantel C., et al.** (2006). Malaria, anemia, and malnutrition in African children - Defining intervention priorities. *Journal of Infectious Diseases.* 194 (1):p.108-114.
- Ekvall H.** (2003). Malaria and anemia. *Curr Opin Hematol.* 10 (2):p.108-14.
- Enevold A., Nkya W.M., Theisen M., et al.** (2007). Potential impact of host immunity on malaria treatment outcome in Tanzanian children infected with *Plasmodium falciparum*. *Malar J.* 16; 6:153.
- Faich G.A. and Mason J.** (1975). The prevalence and relationships of malaria, anemia, and malnutrition in a coastal area of El Salvador. *Am J Trop Med Hyg.* 24 (2):p.161-7.
- FAO** (1962). Joint FAO-WHO Expert Committee on Nutrition. Sixth report. Geneva. 245:p.1-68.
- FAO** (1971). Joint FAO-WHO Expert Committee on Nutrition. Eighth report. Geneva, 9-18 November 1970. World Health Organ Tech Rep Ser. 477: 1-80.
- FAO** (2008). State of Food Insecurity in the World 2008, (The). High food prices and food security - threats and opportunities. Rome, FAO, pp. 56.
- Farooq U. and Mahajan R.C.** (2004). Drug resistance in malaria. *J Vector Borne Dis.* 41 (3-4):p.45-53.
- Fernando D., Wickremasinghe R., Mendis K.N., et al.** (2003). Cognitive performance at school entry of children living in malaria-endemic areas of Sri Lanka. *Trans R Soc Med Hyg.* 97 (2):p.161-165.
- Field C.J., Johnson I.R. and Schley P.D.** (2002). Nutrients and their role in host resistance to infection. *J Leukoc Biol.* 71 (1):p.16-32.
- Fillinger U., Knols B.G. and Becker N.** (2003). Efficacy and efficiency of new *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* and *Bacillus sphaericus* formulations against Afrotropical anophelines in Western Kenya. *Trop Med Int Health.* 8 (1):p.37-47.
- Fishman S., Caulfield L., de Onis M., et al.** (2004). Childhood and maternal underweight. Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. Ezzati M., Lopez AD., Rodgers A. and Murray CLZ. Genève, OMS: 39-161.
- Friedman J.F., Kurtis J.D., Mtalib R., et al.** (2003). Malaria is related to decreased nutritional status among male adolescents and adults in the setting of intense perennial transmission. *J Infect Dis.* 188 (3):p.449-57.
- Friedman J.F., Phillips-Howard P.A., Hawley W.A., et al.** (2003). Impact of permethrin-treated bed nets on growth, nutritional status, and body composition of primary school children in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 68 (4 Suppl):p.78-85.
- Friedman J.F., Kwena A.M., Mirel L.B., et al.** (2005). Malaria and nutritional status among pre-school children: results from cross-sectional surveys in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 73 (4):p.698-704.
- Friedman J.F., Phillips-Howard P.A., Mirel L.B., et al.** (2005). Progression of stunting and its predictors among school-aged children in western Kenya. *Eur J Clin Nutr.* 59 (8):p.914-22.
- Frood J.D.** (1971). Relationship between pattern of infection and development of hypoalbuminaemia and hypo-beta-lipoproteinaemia in rural Ugandan children. *Lancet.* 2 (7733):p.1047-9.
- Gallup J.L. and Sachs J.D.** (2001). The economic burden of malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 64 (1-2):p.85-96.
- Garnham P.C.** (1949). Malarial immunity in Africans; effects in infancy and early childhood. *Ann Trop Med Parasitol.* 43 (1):p.47-61.

- Garraud O., Mahanty S. and Perraut R.** (2003). Malaria-specific antibody subclasses in immune individuals: a key source of information for vaccine design. *Trends Immunol.* 24 (1):p.30-5.
- Geerligs P.D., Brabin B.J. and Eggelte T.A.** (2003). Analysis of the effects of malaria chemoprophylaxis in children on haematological responses, morbidity and mortality. *Bull World Health Organ.* 81 (3):p.205-16.
- Genton B., Al-Yaman F., Ginny M., et al.** (1998). Relation of anthropometry to malaria morbidity and immunity in Papua New Guinean children. *Am J Clin Nutr.* 68 (3):p.734-41.
- Gimnig J.E., Vulule J.M., Lo T.Q., et al.** (2003). Impact of permethrin-treated bed nets on entomologic indices in an area of intense year-round malaria transmission. *Am J Trop Med Hyg.* 68 (4 Suppl):p.16-22.
- Golden M.H.** (1991). The nature of nutritional deficiency in relation to growth failure and poverty. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 374:p.95-110.
- Golden M.H.** (1994). Is complete catch-up possible for stunted malnourished children? *Eur J Clin Nutr.* 48 Suppl 1:p.S58-70; discussion S71.
- Gomez F., Ramos Galvan R., Cravioto J., et al.** (1952). [Third grade desnutrition in Mexico; African kwashiorkor.]. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 9 (3):p.281-4.
- Gorstein J., Sullivan K., Yip R., et al.** (1994). Issues in the Assessment of Nutritional-Status Using Anthropometry. *Bulletin of the World Health Organization.* 72 (2):p.273-283.
- Goyal S.C.** (1991). Protein energy malnutrition and cerebral malaria. *J Trop Pediatr.* 37 (3):p.143-4.
- Grantham-McGregor S., Cheung Y.B., Cueto S., et al.** (2007). Developmental potential in the first 5 years for children in developing countries. *Lancet.* 369 (9555):p.60-70.
- Greenwood A.M., Menendez C., Alonso P.L., et al.** (1994). Can malaria chemoprophylaxis be restricted to first pregnancies? *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 88 (6):p.681-2.
- Greenwood B., Marsh K. and Snow R.** (1991). Why do some African children develop severe malaria? *Parasitol Today.* 7 (10):p.277-81.
- Greenwood B.** (2004). The use of anti-malarial drugs to prevent malaria in the population of malaria-endemic areas. *Am J Trop Med Hyg.* 70 (1):p.1-7.
- Greenwood B.** (2006). Review: Intermittent preventive treatment--a new approach to the prevention of malaria in children in areas with seasonal malaria transmission. *Trop Med Int Health.* 11 (7):p.983-91.
- Greenwood B.M., Bradley-Moore A.M., Bradley A.K., et al.** (1986). The immune response to vaccination in undernourished and well-nourished Nigerian children. *Ann Trop Med Parasitol.* 80 (5):p.537-44.
- Greenwood B.M.** (1997). The epidemiology of malaria. *Ann Trop Med Parasitol.* 91 (7):p.763-9.
- Grummerstrawn L.M.** (1993). Does Prolonged Breast-Feeding Impair Child Growth - a Critical-Review. *Pediatrics.* 91 (4):p.766-771.
- Guillet P., N'Guessan R., Darriet F., et al.** (2001). Combined pyrethroid and carbamate 'two-in-one' treated mosquito nets: field efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *Med Vet Entomol.* 15 (1):p.105-12.
- Gupta S., Snow R.W., Donnelly C.A., et al.** (1999). Immunity to non-cerebral severe malaria is acquired after one or two infections. *Nature Medicine.* 5 (3):p.340-343.
- Haas J.D., Murdoch S., Rivera J., et al.** (1996). Early nutrition and later physical work capacity. *Nutr Rev.* 54 (2 Pt 2):p.S41-8.
- Hamill P.V., Drizd T.A., Johnson C.L., et al.** (1979). Physical growth: National Center for Health Statistics percentiles. *Am J Clin Nutr.* 32 (3):p.607-29.
- Haynes R.K.** (2001). Artemisinin and derivatives: the future for malaria treatment? *Curr Opin Infect Dis.* 14 (6):p.719-26.
- Hendrickse R.G., Hasan A.H., Olumide L.O., et al.** (1971). Malaria in early childhood. An investigation of five hundred seriously ill children in whom a "clinical" diagnosis of malaria was made on admission to the children's emergency room at University College Hospital, Ibadan. *Ann Trop Med Parasitol.* 65 (1):p.1-20.
- Henry M.C., Assi S.B., Rogier C., et al.** (2005). Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Cote d'Ivoire. *Am J Trop Med Hyg.* 73 (5):p.859-64.
- Hensmann M. and Kwiatkowski D.** (2001). Cellular basis of early cytokine response to *Plasmodium falciparum*. *Infect Immun.* 69 (4):p.2364-71.
- Ho M., Sexton M.M., Tongtawe P., et al.** (1995). Interleukin-10 inhibits tumor necrosis factor production but not antigen-specific lymphoproliferation in acute *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis.* 172 (3):p.838-44.
- Hoffman S.L., Crutcher J.M., Puri S.K., et al.** (1997). Sterile protection of monkeys against malaria after administration of interleukin-12. *Nat Med.* 3 (1):p.80-3.
- Holding P.A. and Snow R.W.** (2001). Impact of *Plasmodium falciparum* malaria on performance and learning: Review of the evidence. *Am J Trop Med Hyg.* 64 (1-2):p.68-75.
- Hughes D.A.** (2002). Role of iron in immunity and infection. Nutrition and immune function. P. C. Calder, C. J. Field and

- H. S. Gill. New York, CABI Publishing. 1: 171-191.
- Hung L.Q., de Vries P.J., Giau P.T., et al.** (2005). Nutritional status following malaria control in a Vietnamese ethnic minority commune. *Eur J Clin Nutr.* 59 (8):p.891-9.
- Iannotti L.L., Tielsch J.M., Black M.M., et al.** (2006). Iron supplementation in early childhood: health benefits and risks. *American Journal of Clinical Nutrition.* 84 (6):p.1261-1276.
- Idro R., Jenkins N.E. and Newton C.R.J.C.** (2005). Pathogenesis, clinical features, and neurological outcome of cerebral malaria. *Lancet Neurology.* 4 (12):p.827-840.
- Issifou S., Mavougou E., Borrmann S., et al.** (2003). Severe malarial anemia associated with increased soluble Fas ligand (sFasL) concentrations in Gabonese children. *Eur Cytokine Netw.* 14 (4):p.238-41.
- Jelliffe D.B.** (1969). Infant nutrition in the subtropics and tropics. *WHO Chron.* 23 (4):p.163-8.
- Jetten A.M.** (2009). Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *Nucl Recept Signal.* 7:p.e003.
- Johnston F.** (2002). Social and economic influences on growth and secular trends. Human growth and development. K. Blaxter and J. Waterlow. London: 31-43.
- Keen C.L. and Gershwin M.E.** (1990). Zinc-Deficiency and Immune Function. *Annual Review of Nutrition.* 10:p.415-431.
- Khanum S., Alam A.N., Anwar I., et al.** (1988). Effect of zinc supplementation on the dietary intake and weight gain of Bangladeshi children recovering from protein-energy malnutrition. *Eur J Clin Nutr.* 42 (8):p.709-14.
- Killeen G.F., McKenzie F.E., Foy B.D., et al.** (2000). A simplified model for predicting malaria entomologic inoculation rates based on entomologic and parasitologic parameters relevant to control. *Am J Trop Med Hyg.* 62 (5):p.535-544.
- King C.H. and Dangerfield-Cha M.** (2008). The unacknowledged impact of chronic schistosomiasis. *Chronic Illn.* 4 (1):p.65-79.
- Kitua A.Y., Smith T.A., Alonso P.L., et al.** (1997). The role of low level *Plasmodium falciparum* parasitaemia in anaemia among infants living in an area of intense and perennial transmission. *Trop Med Int Health.* 2 (4):p.325-33.
- Krishna S., Waller D.W., ter Kuile F., et al.** (1994). Lactic acidosis and hypoglycaemia in children with severe malaria: pathophysiological and prognostic significance. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 88 (1):p.67-73.
- Kublin J.G., Cortese J.F., Njunu E.M., et al.** (2003). Reemergence of chloroquine-sensitive *Plasmodium falciparum* malaria after cessation of chloroquine use in Malawi. *Journal of Infectious Diseases.* 187 (12):p.1870-1875.
- Kumaratilake L.M. and Ferrante A.** (1994). T-cell cytokines in malaria: their role in the regulation of neutrophil- and macrophage-mediated killing of *Plasmodium falciparum* asexual blood forms. *Res Immunol.* 145 (6):p.423-9.
- Kuvibidila S. and Surenda Baliga B.** (2002). Role of iron in immunity and infection. Nutrition and immune function. P. C. Calder, C. J. Field and H. S. Gill. New York, CABI Publishing. 1: 209-228.
- Kweku M., Liu D., Adjuik M., et al.** (2008). Seasonal intermittent preventive treatment for the prevention of anaemia and malaria in Ghanaian children: a randomized, placebo controlled trial. *PLoS One.* 3 (12):p.e4000.
- Kwiatkowski D., Molyneux M.E., Stephens S., et al.** (1993). Anti-TNF therapy inhibits fever in cerebral malaria. *Q J Med.* 86 (2):p.91-8.
- Kwiatkowski D.** (1999). Inflammatory processes in the pathogenesis of malaria, Harwood Academic Publishers, pp.
- Kwiatkowski D.** (1999). The molecular genetic approach to malarial pathogenesis and immunity. *Parassitologia, Vol 41, Nos 1-3, September 1999.*p.233-40
528.
- Labbe R.F., Vreman H.J. and Stevenson D.K.** (1999). Zinc protoporphyrin: A metabolite with a mission. *Clin Chem.* 45 (12):p.2060-72.
- Lacombe K., Yam A., Simondon K., et al.** (2004). Risk factors for acellular and whole-cell pertussis vaccine failure in Senegalese children. *Vaccine.* 23 (5):p.623-28.
- Lakshmi G., Reddy R.P., Kumar K.K., et al.** (2000). Study of the safety, immunogenicity and seroconversion of a hepatitis-B vaccine in malnourished children of India. *Vaccine.* 18 (19):p.2009-14.
- Lamikanra A.A., Brown D., Potocnik A., et al.** (2007). Malarial anemia: of mice and men. *Blood.* 110 (1):p.18-28.
- Leke L., Saygılı A., Vural M., et al.** (1996). Malnutrition and immunodeficiency in children. *Archives De Pediatrie.* 3 (7):p.705-13.
- Leonard W.J., Zeng R. and Spolski R.** (2008). Interleukin 21: a cytokine/cytokine receptor system that has come of age. *J Leukoc Biol.* 84 (2):p.348-56.
- Levander O.A. and Ager A.L., Jr.** (1993). Malarial parasites and antioxidant nutrients. *Parasitology.* 107 Suppl:p.S95-106.
- Levi P.** (2002). Niveaux et tendances des indicateurs démographiques dans la zone de Niakhar. Journée de valorisation des recherches sur Niakhar. IRD. Dakar.
- Mackintosh C.L., Beeson J.G. and Marsh K.** (2004). Clinical features and pathogenesis of severe malaria. *Trends in Parasitology.* 20 (12):p.597-603.
- Malafaia G., Serafim T.D., Silva M.E., et al.** (2009). Protein-energy malnutrition

- decreases immune response to *Leishmania chagasi* vaccine in BALB/c mice. *Parasite Immunol.* 31 (1):p.41-9.
- Marino D.D.** (2007). Water and food safety in the developing world: global implications for health and nutrition of infants and young children. *J Am Diet Assoc.* 107 (11):p.1930-4.
- Marquis G.S., Habicht J.P., Lanata C.F., et al.** (1997). Association of breastfeeding and stunting in Peruvian toddlers: an example of reverse causality. *Int J Epidemiol.* 26 (2):p.349-56.
- Martorell R. and Habicht J.P.** (1986). Growth in early childhood in developing countries. Human growth: A comprehensive treatise. F. Falkner, & and J. M. Tanner. New York and London, Plenum Press. 3.
- Martorell R., Rivera J., Kaplowitz H., et al.** (1992). Long-term consequences of growth retardation during early childhood. Human growth: Basic and clinical aspects. M. Hernandez and J. Argente. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V.: 143-149.
- Martorell R., Khan L.K. and Schroeder D.G.** (1994). Reversibility of stunting: epidemiological findings in children from developing countries. *Eur J Clin Nutr.* 48 Suppl 1:p.S45-57.
- Mathews G.V., Sidjanski S. and Vanderberg J.P.** (1996). Inhibition of mosquito salivary gland apyrase activity by antibodies produced in mice immunized by bites of *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg.* 55 (4):p.417-423.
- McGregor I.A., Gilles H.M., Walters J.H., et al.** (1956). Effects of heavy and repeated malarial infections on Gambian infants and children; effects of erythrocytic parasitization. *Br Med J.* 2 (4994):p.686-92.
- McGregor I.A., Carrington S.P. and Cohen S.** (1963). Treatment of east african *Plasmodium falciparum* malaria with west african human [gamma]-globulin. *Trans R Soc Med Hyg.* 57 (3):p.170-175.
- McLean E., Cogswell M., Egli I., et al.** (2009). Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public Health Nutr.* 12 (4):p.444-54.
- Mei Z., Yip R., Grummer-Strawn L.M., et al.** (1998). Development of a research child growth reference and its comparison with the current international growth reference. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 152 (5):p.471-9.
- Mendez M.A. and Adair L.S.** (1999). Severity and timing of stunting in the first two years of life affect performance on cognitive tests in late childhood. *J Nutr.* 129 (8):p.1555-62.
- Mewono L., Matondo Maya D.W., Matsiegui P.B., et al.** (2008). Interleukin-21 is associated with IgG1 and IgG3 antibodies to erythrocyte-binding antigen-175 peptide 4 of *Plasmodium falciparum* in Gabonese children with acute falciparum malaria. *Eur Cytokine Netw.* 19 (1):p.30-6.
- Millward D.J. and Jackson A.A.** (2004). Protein/energy ratios of current diets in developed and developing countries compared with a safe protein/energy ratio: implications for recommended protein and amino acid intakes. *Public Health Nutrition.* 7 (3):p.387-405.
- Milman A., Frongillo E.A., de Onis M., et al.** (2005). Differential improvement among countries in child stunting is associated with long-term development and specific interventions. *J Nutr.* 135 (6):p.1415-22.
- Mitangala Ndeba P., Hennart P., D'Alessandro U., et al.** (2008). [Protein-energy malnutrition and malaria-related morbidity in children under 59 months in the Kivu region of the Democratic Republic of the Congo]. *Med Trop (Mars).* 68 (1):p.51-7.
- Molineaux L.** (1988). The epidemiology of human malaria as an explanation of its distribution, including some implications for its control. Malaria: principles and practices of malariology. W. Wernsdorfer and I. MacGregor. London, Churchill Livingstone: 913-998.
- Moore S.E., Goldblatt D., Bates C.J., et al.** (2003). Impact of nutritional status on antibody responses to different vaccines in undernourished Gambian children. *Acta Paediatr.* 92 (2):p.170-6.
- Mouchet J., Carnevale P., Coosemans M., et al.** (2004). Biodiversité du paludisme dans le monde. Paris, John Libbey Eurotext, pp. 428.
- Mucida D. and Cheroutre H.** (2007). TGFbeta and retinoic acid intersect in immune-regulation. *Cell Adh Migr.* 1 (3):p.142-4.
- Muller O., Garenne M., Kouyate B., et al.** (2003). The association between protein-energy malnutrition, malaria morbidity and all-cause mortality in West African children. *Trop Med Int Health.* 8 (6):p.507-11.
- Muller O., Traore C., Kouyate B., et al.** (2006). Effects of insecticide-treated bednets during early infancy in an African area of intense malaria transmission: a randomized controlled trial. *Bulletin of the World Health Organization.* 84 (2):p.120-126.
- Mung'Ala-Odera V., Snow R.W. and Newton C.R.J.C.** (2004). The burden of the neurocognitive impairment associated with *Plasmodium falciparum* malaria in sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 71 (2):p.64-70.
- Munier A., Diallo A., Cot M., et al.** (2009). Anti-malarial prescriptions in three health care facilities after the emergence of chloroquine resistance in Niakhar, Senegal (1992-2004). *Malar J.* 27; 8: 83.
- Murphy S.C. and Breman J.G.** (2001). Gaps in the childhood malaria burden in Africa: Cerebral malaria, neurological sequelae, anemia, respiratory distress, hypoglycemia, and complications of pregnancy. *Am J Trop Med Hyg.* 64 (1-2):p.57-67.

- Murray C.J. and Lopez A.D.** (1997). Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 349 (9063):p.1436-42.
- Murray M.J., Murray A.B., Murray M.B., et al.** (1976). Somali food shelters in the Ogaden famine and their impact on health. *Lancet*. 1 (7972):p.1283-5.
- Murray M.J., Murray A.B., Murray N.J., et al.** (1995). Infections during severe primary undernutrition and subsequent refeeding: paradoxical findings. *Aust N Z J Med*. 25 (5):p.507-11.
- N'Guessan R., Corbel V., Akogbeto M., et al.** (2007). Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerging Infectious Diseases*. 13 (2):p.199-206.
- Nahum A., Erhart A., Ahounou D., et al.** (2009). Extended high efficacy of the combination sulfadoxine-pyrimethamine with artesunate in children with uncomplicated *falciparum* malaria on the Benin coast, West Africa. *Malar J*. 3; 8: 37.
- Nardin E.H. and Nussenzweig R.S.** (1993). T cell responses to pre-erythrocytic stages of malaria: role in protection and vaccine development against pre-erythrocytic stages. *Annu Rev Immunol*. 11:p.687-727.
- Ntab B., Cisse B., Boulanger D., et al.** (2007). Impact of intermittent preventive anti-malarial treatment on the growth and nutritional status of preschool children in rural Senegal (west Africa). *Am J Trop Med Hyg*. 77 (3):p.411-7.
- Nube M.** (2001). Confronting dietary energy supply with anthropometry in the assessment of undernutrition prevalence at the level of countries. *World Development*. 29 (7):p.1275-1289.
- Nussenblatt V., Mukasa G., Metzger A., et al.** (2001). Anemia and Interleukin-10, Tumor Necrosis Factor Alpha, and Erythropoietin Levels among Children with Acute, Uncomplicated *Plasmodium falciparum* Malaria. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*. 8 (6):p.1164-1170.
- Nwyanwu O.C., Ziba C., Kazembe P.N., et al.** (1996). The effect of oral iron therapy during treatment for *Plasmodium falciparum* malaria with sulfadoxine-pyrimethamine on Malawian children under 5 years of age. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 90 (6):p.589-595.
- Nwuga V.C.** (1977). Effect of severe kwashiorkor on intellectual development among Nigerian children. *Am J Clin Nutr*. 30 (9):p.1423-30.
- Nyakeriga A.M., Troye-Blomberg M., Chemtai A.K., et al.** (2004). Malaria and nutritional status in children living on the coast of Kenya. *Am J Clin Nutr*. 80 (6):p.1604-10.
- Nyakeriga A.M., Troye-Blomberg M., Dorfman J.R., et al.** (2004). Iron deficiency and malaria among children living on the coast of Kenya. *Journal of Infectious Diseases*. 190 (3):p.439-447.
- Ojo O., Deane R. and Amuna P.** (2000). The use of anthropometric and clinical parameters for early identification and categorisation of nutritional risk in pre-school children in Benin City, Nigeria. *Journal of the Royal Society for the Promotion of Health*. 120 (4):p.230-235.
- OMS** (1964). Terminologie du paludisme et de l'éradication du paludisme. OMS, Série de Rapports Techniques. Genève: 174.
- OMS** (1983). Mesure des modifications de l'état nutritionnel: Guide pour la mesure de l'impact nutritionnel des programmes d'alimentation. Genève, Organisation Mondiale de la Santé: 104.
- OMS** (1995). Utilisation et interprétation de l'anthropométrie. OMS, Série de Rapports Techniques. Genève. 854: 499.
- OMS** (2003). Le rapport sur le paludisme en Afrique 2003. Genève, OMS/UNICEF
- OMS.** (2004). "www.who.int/nutgrowthdb/database/countries/sen/en/."
- OMS** (2006). Directives pour le traitement du paludisme. Geneva, World Health Organization: 282.
- OMS** (2008). World Malaria Report 2008. Geneva, World Health Organization: 215.
- OMS.** (2009). "<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/fr/index.html>."
- ONU.** (2009). "Objectifs du Millénaire pour le Développement: Rapport 2009."
- Openheimer S.J., Gibson F.D., Macfarlane S.B., et al.** (1986). Iron supplementation increases prevalence and effects of malaria: report on clinical studies in Papua New Guinea. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 80 (4):p.603-12.
- Openheimer S.J.** (2001). Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J Nutr*. 131 (2):p.616s-633s.
- Orago A.S. and Facer C.A.** (1991). Cytotoxicity of human natural killer (NK) cell subsets for *Plasmodium falciparum* erythrocytic schizonts: stimulation by cytokines and inhibition by neomycin. *Clin Exp Immunol*. 86 (1):p.22-9.
- Owen G.M.** (1978). The new National Center for Health Statistics growth charts. *South Med J*. 71 (3):p.296-7.
- Oyhenart E.E. and Orden Y.B.** (2005). Differences in the prevalence. *Revista Panamericana De Salud Publica-Pan American Journal of Public Health*. 18 (3):p.157-162.
- Pelletier D.L., Frongillo E.A., Jr., Schroeder D.G., et al.** (1995). The effects of malnutrition on child mortality in developing countries. *Bull World Health Organ*. 73 (4):p.443-8.
- Pene J., Gauchat J.F., Lecart S., et al.** (2004). Cutting edge: IL-21 is a switch factor for the production of IgG1 and IgG3 by human B cells. *J Immunol*. 172 (9):p.5154-7.

- Pennetier C., Corbel V., Boko P., et al.** (2007). Synergy between repellents and non-pyrethroid insecticides strongly extends the efficacy of treated nets against *Anopheles gambiae*. *Malar J.* 29; 6: 38.
- Pereira S.M., Begum A. and Baker S.J.** (1978). Studies in iron supplementation of preschool children. *Br J Nutr.* 39 (3):p.493-9.
- Perraut R., Guillotte M., Drame I., et al.** (2002). Evaluation of anti-*Plasmodium falciparum* antibodies in Senegalese adults using different types of crude extracts from various strains of parasite. *Microbes Infect.* 4 (1):p.31-5.
- Phillips-Howard P.A., Nahlen B.L., Kolczak M.S., et al.** (2003). Efficacy of permethrin-treated bed nets in the prevention of mortality in young children in an area of high perennial malaria transmission in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 68 (4):p.23-29.
- Pichard E. and Beytout J.** (2002). MalinTrop Afrique: manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique, John Libbey Eurotext, pp. 589.
- Poinsignon A.** (2008). De l'identification à la validation de protéines salivaires comme marquer immunologique d'exposition aux piqûres d'*Anopheles spp.* et de *Glossina spp.* IRD - UR24. Montpellier, Université Montpellier I, pp. 222.
- Pollitt E., Gorman K.S., Engle P.L., et al.** (1993). Early supplementary feeding and cognition: effects over two decades. *Monogr Soc Res Child Dev.* 58 (7):p.1-99; discussion 111-8.
- Powell G.M.** (1982). Response to live attenuated measles vaccine in children with severe kwashiorkor. *Ann Trop Paediatr.* 2 (3):p.143-5.
- Prasad A.S.** (2000). Effects of zinc deficiency on immune functions. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine.* 13 (1):p.1-20.
- Prentice A.M., Ghattas H., Doherty C., et al.** (2007). Iron metabolism and malaria. *Food Nutr Bull.* 28 (4 Suppl):p.S524-39.
- Prentice A.M.** (2008). Iron metabolism, malaria, and other infections: what is all the fuss about? *J Nutr.* 138 (12):p.2537-41.
- Purtilo D.T. and Connor D.H.** (1975). Fatal infections in protein-calorie malnourished children with thymolymphatic atrophy. *Arch Dis Child.* 50 (2):p.149-52.
- Rajalakshmi R., Sail S.S., Shah D.G., et al.** (1973). The effects of supplements varying in carotene and calcium content on the physical, biochemical and skeletal status of preschool children. *Br J Nutr.* 30 (1):p.77-86.
- Rhodain F.** (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Paris.
- Rice A.L., Sacco L., Hyder A., et al.** (2000). Malnutrition as an underlying cause of childhood deaths associated with infectious diseases in developing countries. *Bull World Health Organ.* 78 (10):p.1207-21.
- Ringwald P., Peyron F., Vuillez J.P., et al.** (1991). Levels of cytokines in plasma during *Plasmodium falciparum* malaria attacks. *J Clin Microbiol.* 29 (9):p.2076-8.
- Robert V., Dieng H., Lochouarn L., et al.** (1998). Transmission of malaria around Niakhar, Senegal. *Tropical Medicine & International Health.* 3 (8):p.667-677.
- Roetynck S., Baratin M., Vivier E., et al.** (2006). [NK cells and innate immunity to malaria]. *Med Sci (Paris).* 22 (8-9):p.739-44.
- Rogier C., Tall A., Diagne N., et al.** (1999). *Plasmodium falciparum* clinical malaria: lessons from longitudinal studies in Senegal. *Parassitologia, Vol 41, Nos 1-3, September 1999.*p.255-259
- 528.
- Rogier C.** (2003). [Childhood malaria in endemic areas: epidemiology, acquired immunity and control strategies]. *Med Trop (Mars).* 63 (4-5):p.449-64.
- Rogier C., Fusai T., Pradines B., et al.** (2005). [Evaluating malaria attributable morbidity in endemic areas]. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 53 (3):p.299-309.
- Rowland M.G., Cole T.J. and Whitehead R.G.** (1977). A quantitative study into the role of infection in determining nutritional status in Gambian village children. *Br J Nutr.* 37 (3):p.441-50.
- Sarr J.B., Remoue F., Samb B., et al.** (2007). Evaluation of antibody response to *Plasmodium falciparum* in children according to exposure of *Anopheles gambiae* s.l or *Anopheles funestus* vectors. *Malar J.* 1; 6:117.
- Satyanarayana K., Naidu A.N. and Narasinga Rao B.S.** (1979). Nutritional deprivation in childhood and the body size, activity, and physical work capacity of young boys. *Am J Clin Nutr.* 32 (9):p.1769-75.
- Sazawal S., Black R.E., Ramsan M., et al.** (2006). Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet.* 367 (9505):p.133-43.
- Schaible U.E. and Kaufmann S.H.** (2007). Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Med.* 4 (5):p.e115.
- Schellenberg D., Menendez C., Kahigwa E., et al.** (2001). Intermittent treatment for malaria and anaemia control at time of routine vaccinations in Tanzanian infants: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet.* 357 (9267):p.1471-7.
- Schroeder D.G. and Brown K.H.** (1994). Nutritional status as a predictor of child survival: summarizing the association and quantifying its global impact. *Bull World Health Organ.* 72 (4):p.569-79.
- Scrimshaw N.S., Taylor C.E. and Gordon J.E.** (1968). Interactions of nutrition and

- infection. *Monogr Ser World Health Organ.* 57:p.3-329.
- Serghides L. and Kain K.C.** (2002). Mechanism of protection induced by vitamin A in falciparum malaria. *Lancet.* 359 (9315):p.1404-1406.
- Shankar A.H. and Prasad A.S.** (1998). Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *American Journal of Clinical Nutrition.* 68 (2):p.447s-463s.
- Shankar A.H., Genton B., Semba R.D., et al.** (1999). Effect of vitamin A supplementation on morbidity due to *Plasmodium falciparum* in young children in Papua New Guinea: a randomised trial. *Lancet.* 354 (9174):p.203-209.
- Shankar A.H.** (2000). Nutritional modulation of malaria morbidity and mortality. *J Infect Dis.* 182 Suppl 1:p.S37-53.
- Sharp P.T. and Harvey P.** (1980). Malaria and growth stunting in young children of the highlands of Papua New Guinea. *P N G Med J.* 23 (3):p.132-40.
- Shiff C., Checkley W., Winch P., et al.** (1996). Changes in weight gain and anaemia attributable to malaria in Tanzanian children living under holoendemic conditions. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 90 (3):p.262-5.
- Shipton D.** (2004). Association between haemoglobin level and susceptibility to malaria: a study of Gambian children. London, London School of Hygiene and Tropical Medicine.
- Simondon K.B. and Simondon F.** (1998). Mothers prolong breastfeeding of undernourished children in rural Senegal. *Int J Epidemiol.* 27 (3):p.490-4.
- Simondon K.B., Simondon F., Simon I., et al.** (1998). Preschool stunting, age at menarche and adolescent height: a longitudinal study in rural Senegal. *Eur J Clin Nutr.* 52 (6):p.412-8.
- Simondon K.B., Costes R., Delaunay V., et al.** (2001). Children's height, health and appetite influence mothers' weaning decisions in rural Senegal. *Int J Epidemiol.* 30 (3):p.476-81.
- Simondon KB, Bénéfice E, Simondon F, et al.** (1993). Seasonal variations in nutritional status of adults and children in rural Senegal. Seasonality and human ecology. Ulijaszek SJ and Strickland SS. Cambridge, Cambridge University Press: 166-183.
- Smith T., Maire N., Dietz K., et al.** (2006). Relationship between the entomologic inoculation rate and the force of infection for *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 75 (2):p.11-18.
- Snow R.W., Byass P., Shenton F.C., et al.** (1991). The relationship between anthropometric measurements and measurements of iron status and susceptibility to malaria in Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 85 (5):p.584-9.
- Snow R.W., Molyneux C.S., Njeru E.K., et al.** (1997). The effects of malaria control on nutritional status in infancy. *Acta Trop.* 65 (1):p.1-10.
- Snow R.W., Nahlen B., Palmer A., et al.** (1998). Risk of severe malaria among African infants: direct evidence of clinical protection during early infancy. *J Infect Dis.* 177 (3):p.819-22.
- Sokhna C., Cisse B., Ba el H., et al.** (2008). A trial of the efficacy, safety and impact on drug resistance of four drug regimens for seasonal intermittent preventive treatment for malaria in Senegalese children. *PLoS One.* 3 (1):p.e1471.
- Sommer A.** (2008). Vitamin a deficiency and clinical disease: an historical overview. *J Nutr.* 138 (10):p.1835-9.
- Stephensen C.B.** (2001). Vitamin A, infection, and immune function. *Annu Rev Nutr.* 21:p.167-92.
- Stevenson M.M., Tam M.F., Wolf S.F., et al.** (1995). IL-12-induced protection against blood-stage *Plasmodium chabaudi* AS requires IFN-gamma and TNF-alpha and occurs via a nitric oxide-dependent mechanism. *J Immunol.* 155 (5):p.2545-56.
- Stoltzfus R.J.** (2008). Research Needed to Strengthen Science and Programs for the Control of Iron Deficiency and Its Consequences in Young Children. *J Nutr.* 138 (12):p.2542-2546.
- Taylor R.R., Smith D.B., Robinson V.J., et al.** (1995). Human antibody response to *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 2 is serogroup specific and predominantly of the immunoglobulin G3 subclass. *Infect Immun.* 63 (11):p.4382-8.
- Taylor R.R., Allen S.J., Greenwood B.M., et al.** (1998). IgG3 antibodies to *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 2 (MSP2): increasing prevalence with age and association with clinical immunity to malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 58 (4):p.406-13.
- ter Kuile F.O., Terlouw D.J., Kariuki S.K., et al.** (2003). Impact of permethrin-treated bed nets on malaria, anemia, and growth in infants in an area of intense perennial malaria transmission in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 68 (4 Suppl):p.68-77.
- ter Kuile F.O., Terlouw D.J., Phillips-Howard P.A., et al.** (2003). Impact of permethrin-treated bed nets on malaria and all-cause morbidity in young children in an area of intense perennial malaria transmission in western Kenya: cross-sectional survey. *Am J Trop Med Hyg.* 68 (4 Suppl):p.100-7.
- Thibault H., Galan P., Selz F., et al.** (1993). The immune response in iron-deficient young children: effect of iron supplementation on cell-mediated immunity. *Eur J Pediatr.* 152 (2):p.120-4.
- Tonglet R., Lembo E.M., Zihindula P.M., et al.** (1999). How useful are anthropometric, clinical and dietary measurements of nutritional status as predictors of morbidity of young children in

- central Africa? *Tropical Medicine & International Health*. 4 (2):p.120-130.
- Trape J.F., Lefebvrezante E., Legros F., et al.** (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 (6):p.748-756.
- Trape J.F. and Rogier C.** (1996). Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission. *Parasitology Today*. 12 (6):p.236-240.
- Trape J.F.** (2001). [Limits of impregnated bednets for malaria control in tropical Africa]. *Bull Soc Pathol Exot*. 94 (2 Pt 2):p.174-9.
- Trape J.F., Pison G., Spiegel A., et al.** (2002). Combating malaria in Africa. *Trends Parasitol*. 18 (5):p.224-30.
- Trowell H.C., Davies J.N. and Dean R.F.** (1955). Kwashiorkor and malnutrition. *Acta Paediatr*. 44 (5):p.487-90.
- Troye-Blomberg M. and Perlmann P.** (1994). Malaria immunity: An overview with emphasis on T cell function. Molecular Immunological Considerations in malaria Vaccine Development. M. Good and A. Saul, CRC Press: 1-46.
- Troye-Blomberg M., Worku S., Tangteerawatana P., et al.** (1999). Human gamma delta T cells that inhibit the in vitro growth of the asexual blood stages of the *Plasmodium falciparum* parasite express cytolytic and proinflammatory molecules. *Scand J Immunol*. 50 (6):p.642-50.
- Tshikuka J.G., Gray-Donald K., Scott M., et al.** (1997). Relationship of childhood protein-energy malnutrition and parasite infections in an urban African setting. *Trop Med Int Health*. 2 (4):p.374-82.
- Udomsangpetch R., Chivapat S., Viriyavejakul P., et al.** (1997). Involvement of cytokines in the histopathology of cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 57 (5):p.501-6.
- UNICEF.** (2009). "www.childinfo.org."
- UNICEF W.H.O.** (2008). "The State of the World's Children 2008: Child Survival." Retrieved 23 Mars 2009, 2008.
- V. Delley, P. Bouvier, N. Breslow, et al.** (2000). What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali. *Tropical Medicine & International Health*. 5 (6):p.404-412.
- Vandenbroeck J., Meulemans W. and Eeckels R.** (1994). Nutritional Assessment - the Problem of Clinical Anthropometrical Mismatch. *Eur J Clin Nutr*. 48 (1):p.60-65.
- VandenBroeck J., Eeckels R. and Massa G.** (1996). Validity of single-weight measurements to predict current malnutrition and mortality in children. *J Nutr*. 126 (1):p.113-120.
- Verhoef H., West C.E., Nzyuko S.M., et al.** (2002). Intermittent administration of iron and sulfadoxine-pyrimethamine to control anaemia in Kenyan children: a randomised controlled trial. *Lancet*. 360 (9337):p.908-914.
- Verhoef H., West C.E., Veenemans J., et al.** (2002). Stunting may determine the severity of malaria-associated anemia in African children. *Pediatrics*. 110 (4):p.e48.
- Victora C.G., Adair L., Fall C., et al.** (2008). Maternal and child undernutrition: consequences for adult health and human capital. *Lancet*. 371 (9609):p.340-57.
- Villamor E. and Fawzi W.W.** (2000). Vitamin A supplementation: implications for morbidity and mortality in children. *J Infect Dis*. 182 Suppl 1:p.S122-33.
- Walker S.P., Chang S.M., Powell C.A., et al.** (2005). Effects of early childhood psychosocial stimulation and nutritional supplementation on cognition and education in growth-stunted Jamaican children: prospective cohort study. *Lancet*. 366 (9499):p.1804-7.
- Walker S.P., Wachs T.D., Gardner J.M., et al.** (2007). Child development: risk factors for adverse outcomes in developing countries. *Lancet*. 369 (9556):p.145-57.
- Walt F.** (1959). Anaemia in kwashiorkor. *J Trop Pediatr*. 5 (1):p.3-9.
- Waterlow J.C.** (1961). The rate of recovery of malnourished infants in relation to the protein and calorie levels of the diet. *J Trop Pediatr*. 7:p.16-22.
- Waterlow J.C.** (1972). Classification and definition of protein-calorie malnutrition. *Br Med J*. 3 (5826):p.566-9.
- Waterlow J.C., Buzina R., Keller W., et al.** (1977). Presentation and Use of Height and Weight Data for Comparing Nutritional-Status of Group of Children under Age of 10 Years. *Bulletin of the World Health Organization*. 55 (4):p.489-498.
- Wellcome, Trust, Working, et al.** (1970). Classification of infantile malnutrition. *Lancet*. 2:p.302-303.
- Wery M. and Paskoff S.** (1995). Protozoologie médicale, De Boeck université, pp. 276.
- Whaley S.E., Sigman M., Espinosa M.P., et al.** (1998). Infant predictors of cognitive development in an undernourished Kenyan population. *J Dev Behav Pediatr*. 19 (3):p.169-77.
- White N.J., Chapman D. and Watt G.** (1992). The Effects of Multiplication and Synchronicity on the Vascular Distribution of Parasites in *falciparum*-Malaria. *Trans R Soc Med Hyg*. 86 (6):p.590-597.
- White N.J.** (2008). The role of anti-malarial drugs in eliminating malaria. *Malar J*. 11; 7 Suppl 1: S8.
- WHO** (1976). Food and nutrition strategies in national development. Ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Nutrition. *World Health Organ Tech Rep Ser*. (584):p.1-64.
- WHO** (2006). WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl*. 450:p.76-85.
- Who W.H.O.** (1999). Obesity: Preventing and managing the global epidemic -

Introduction. WHO Consultation on Obesity Meeting, Geneva, Switzerland.

Wickstrom G. and Bendix T. (2000). The "Hawthorne effect"--what did the original Hawthorne studies actually show? *Scand J Work Environ Health*. 26 (4):p.363-7.

Williams C.D. (1983). Fifty years ago. Archives of Diseases in Childhood 1933. A nutritional disease of childhood associated with a maize diet. *Arch Dis Child*. 58 (7):p.550-60.

Williams T.N., Maitland K., Phelps L., et al. (1997). Plasmodium vivax: a cause of malnutrition in young children. *QJM*. 90 (12):p.751-7.

Résumé

En Afrique subsaharienne, la malnutrition et le paludisme sont des causes considérables de mortalité chez les jeunes enfants. Nous avons mené une série d'études afin de mieux comprendre l'interaction liant ces deux affections, le but étant d'optimiser l'impact des interventions.

Les données d'un essai randomisé évaluant l'efficacité d'un traitement préventif intermittent (TPI) contre le paludisme chez des enfants de moins de cinq ans nous ont permis d'étudier cette interaction par une approche épidémiologique et immunologique. Lors de cet essai, une nette amélioration du statut en taille a été observée chez tous les enfants inclus dans l'essai, indépendamment du TPI.

Notre première analyse montre que cette amélioration ne semble pas non plus liée à la prise en charge active de la morbidité palustre dont ont bénéficié les enfants. Toutefois, la sensibilisation au paludisme associée aux services médicaux mis en place lors de l'essai semble être la cause la plus probable de cette amélioration.

Nos travaux concernant l'effet de la malnutrition sur la susceptibilité des enfants au paludisme montrent que, contrairement au retard de croissance staturale et à l'insuffisance pondérale, l'émaciation (poids/taille < -2 Z-Score) est associée à la survenue d'une crise palustre et en diminue le risque. L'hypothèse d'une modulation de la réponse immunitaire spécifique chez ces enfants a été proposée pour expliquer ce résultat.

Nous avons donc évalué la réponse anticorps IgG spécifiques à *Plasmodium falciparum* en fonction du type de malnutrition. Seuls les enfants retardés en taille présentaient des taux d'IgG spécifiques significativement plus faibles que les enfants bien-portants. De plus, cette diminution pourrait dépendre de la sévérité du retard de croissance staturale.

L'ensemble de ces résultats soulignent l'importance de prendre en compte l'état nutritionnel des enfants dans les interventions de lutte contre le paludisme, en particulier dans le développement et la mise au point d'un vaccin.

Mots clés: Interaction malnutrition/paludisme, épidémiologie, immunité, enfants, Sénégal.

Relationship between malnutrition and malaria in preschool children of sub-Saharan Africa living in a malaria seasonal transmission area

Summary

In sub-Saharan Africa, malnutrition and malaria are often concomitant and remain two major causes of childhood mortality. We have conducted a series of studies to provide better understanding of the interaction between these two affections to possibly enhance the impact of health interventions.

This interaction was investigated following an epidemiologic and immunologic approach using data collected during an intermittent preventive treatment (IPT) of malaria trial conducted on preschool children. During the IPT trial, the height status of children dramatically improved in both treated and placebo groups suggesting that this change was not related to the IPT *per se*. Our findings suggest that this could result from the advertising on malaria and from the basic medical services offered in the study area during the trial rather than from the active malaria morbidity management provided to all included children.

We also investigated the impact of malnutrition on susceptibility to malaria. Our results indicate that, while no association between stunting or underweight and clinical malaria attacks was found, wasting (weight-for-height < -2 Z-Score) was associated with a decreased risk of experiencing at least one subsequent clinical malaria attack during the season of transmission. A modulation of the specific immune response to malaria in malnourished children has been suspected as the most likely hypothesis to explain such unexpected results. Therefore, we have compared the specific IgG antibody response to *Plasmodium falciparum* between children with different types of malnutrition. Specific IgG levels were significantly lower in stunted children compared to well-nourished ones. Moreover, this decrease seemed to be related to the severity of stunting.

Altogether, these results highlight the importance of integrating children nutritional status when defining malaria control interventions, and particularly in the context of a malaria vaccine development.

Key words: malnutrition/malaria interaction, epidemiology, immunity, preschool children, Senegal.

Discipline: Biologie-Santé

Laboratoire : "Epidémiologie et Prévention", Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier
