



**UNIVERSITÉ  
DE GENÈVE**

**Archive ouverte UNIGE**

<https://archive-ouverte.unige.ch>

Thèse

2009

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

---

De l'infection à la maladie, un processus mal connu: l'exemple du  
paludisme dans une zone endémique d'Afrique sub-saharienne

---

Szeless, Thomas

**How to cite**

SZELESS, Thomas. De l'infection à la maladie, un processus mal connu: l'exemple du paludisme dans une zone endémique d'Afrique sub-saharienne. Doctoral Thesis, 2009. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:4838

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:4838>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:4838](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:4838)



**UNIVERSITÉ  
DE GENÈVE**

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

Section de *Médecine Clinique*

Département de santé et médecine  
communautaires

Institut de médecine sociale et  
préventive

Thèse préparée sous la direction du Professeur André Rougemont

---

# De l'infection à la maladie, un processus mal connu ; l'exemple du paludisme dans une zone endémique d'Afrique sub-saharienne

Thèse  
présentée à la Faculté de médecine  
de l'Université de Genève  
pour obtenir le grade de Docteur en médecine  
par

**Thomas SZELESS**

de Collonges-Bellerive (GE)

Thèse n° 10609

Genève

2009



**UNIVERSITÉ  
DE GENÈVE**

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

## **DOCTORAT EN MEDECINE**

Thèse de :

**Monsieur Thomas SZELESS**

originaire de Collonge-Bellerive (GE)

Intitulée :

**DE L'INFECTION A LA MALADIE, UN PROCESSUS MAL CONNU :  
L'EXEMPLE DU PALUDISME DANS UNE ZONE ENDEMIQUE  
D'AFRIQUE SUB-SAHARIENNE**

La Faculté de médecine, sur le préavis de Monsieur André Rougemont, professeur ordinaire au Département de santé et médecine communautaires, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 7 décembre 2009

Thèse n° **10609**

Jean-Louis Carpentier  
Doyen

N.B. - La thèse doit porter la déclaration précédente et remplir les conditions énumérées dans les "Informations relatives à la présentation des thèses de doctorat à l'Université de Genève".

## Résumé

Partant du constat de notre incapacité à poser, avec une probabilité acceptable, le diagnostic d'accès de paludisme (malaria), en particulier dans les zones endémiques, on passe tout d'abord en revue les méthodes utilisées pour détecter l'infection plasmodiale, puis le processus utilisé pour définir l'accès clinique (infection vs maladie). On met ainsi en évidence à quel point la pratique médicale manque de bases scientifiques pour faire face à un problème d'importance planétaire. On évalue ensuite les principales pistes déjà explorées par nous-mêmes et par d'autres pour faire des choix « technologiques » rationnels et des prises en charge adaptées. Deux contributions originales de l'auteur sont proposées sous forme d'articles publiés et en soumission.



<b>Avertissement concernant les références bibliographiques et les notes</b> .....	<b>3</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>4</b>
<b>Diagnostic du paludisme depuis la découverte du parasite par A. Laveran et du cycle du parasite par R. Ross</b> .....	<b>6</b>
<b>Hypothèse et objectifs</b> .....	<b>8</b>
<b>L'infection palustre</b> .....	<b>9</b>
Etudes longitudinales des infections palustres .....	9
Variabilité de la parasitémie observée dans le sang périphérique.....	10
Phénomène de séquestration relargage .....	13
Modèle de développement de l'immunité .....	14
La mesure de l'infection palustre .....	15
Indicateurs indirects .....	18
<b>Définition de l'accès palustre simple</b> .....	<b>21</b>
<b>Relations entre infection et maladie palustre</b> .....	<b>21</b>
<b>La fièvre et histoire de fièvre</b> .....	<b>24</b>
<b>Approche par seuil de densité parasitaire</b> .....	<b>27</b>
<b>Evaluation de l'endémicité</b> .....	<b>29</b>
<b>Estimation de la morbidité et de la mortalité palustre</b> .....	<b>30</b>
<b>Saisonnalité</b> .....	<b>32</b>
<b>Approche par algorithmes cliniques</b> .....	<b>34</b>
Objectifs des différentes études .....	35
Définition des cas d'accès palustre .....	36
Différences méthodologiques dans l'évaluation des algorithmes cliniques.....	37
Expérience des personnes réalisant l'étude .....	38
Moyen utilisé pour mesurer la fièvre .....	38
Cadre des études.....	39
Comparaison des études selon le niveau d'endémie .....	40
Éléments cliniques utiles pour le diagnostic d'accès palustre.....	44
<b>Création d'un arbre décisionnel</b> .....	<b>46</b>
Implications pour la pratique dans les centres de santé périphériques.....	47
Opposition d'une approche par « risque relatif » et « sensibilité / spécificité ».....	47
<b>Autres manifestations de l'infection plasmodiale</b> .....	<b>52</b>
<b>Le paludisme grave et compliqué</b> .....	<b>52</b>

<b>L'anémie palustre .....</b>	<b>53</b>
Définition .....	53
Relation entre paludisme et anémie .....	53
Anémie chez les femmes enceintes.....	54
Autres causes d'anémie .....	54
Physiopathologie de l'anémie palustre .....	54
Groupes atteints par l'anémie palustre.....	56
Facteurs de risques pour l'anémie palustre.....	56
Le pourquoi des infections chroniques ?.....	57
Particularités des groupes anémiés.....	57
Valeur du diagnostic clinique de l'anémie .....	57
Attitude face à l'anémie palustre .....	58
Influence des anti-paludiques sur l'anémie .....	59
Niveau d'intervention pour le traitement de l'accès palustre.....	60
<b>Le manque d'outils pour le diagnostic d'accès de paludisme .....</b>	<b>61</b>
<b>Conséquences sur les choix médicaux et technologiques.....</b>	<b>63</b>
<b>Conclusions .....</b>	<b>67</b>
<b>Remerciements .....</b>	<b>68</b>
<b>ANNEXE 1 : contribution personnelle publiée .....</b>	<b>69</b>
<b>ANNEXE 2 : contribution personnelle soumise .....</b>	<b>70</b>
<b>ANNEXE 3 : références avec résumés d'auteurs .....</b>	<b>71</b>

## **Avertissement concernant les références bibliographiques et les notes**

Le sujet traité ici étant sensible et sujet à débats parmi les spécialistes, il nous a paru important que le lecteur puisse disposer immédiatement des références auxquelles il est fait allusion. Dans ce but, certaines d'entre elles ont été placées en notes de bas de pages, avec le résumé des auteurs si nécessaire. Toutes sont cependant rassemblées par ordre alphabétique en annexe 3, toujours avec le résumé des auteurs. Nous espérons ainsi faciliter le travail du lecteur en lui donnant la possibilité de fonder son jugement sur les faits établis sans avoir à entreprendre des recherches bibliographiques souvent fastidieuses.



## Introduction

Si l'histoire du paludisme en tant que fièvre périodique liée à l'air (malaria) ou aux marais (paludisme) date de l'antiquité, sa relation avec l'infection à *Plasmodium* coïncide avec la découverte du parasite, vers 1880. Les notions historiques évoquées ici ne font donc référence qu'à une période d'un peu plus d'un siècle. Le sujet principal de ce travail est la relation entre l'infection et la maladie<sup>1</sup> palustres. En dépit des réflexions, souvent récentes sur ce problème complexe, **la pratique** du diagnostic et du traitement reste la même, depuis l'introduction des colorations hématologiques pour détection des parasites (Ochola et al. 2006). Leur seule mise en évidence et, parfois, leur dénombrement, restent l'unique « gold standard » pour définir la maladie palustre.

Par ailleurs, la démarche visant à développer des stratégies de diagnostic, de traitement et de prise en charge des patients, est toujours basée sur le transfert dans les zones endémiques, des méthodes et concepts développés chez les sujets non-immuns des pays industrialisés. Des adaptations locales ou régionales aux directives générales publiées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), ne suffisent généralement pas à une modification des pratiques en vigueur.

Dans la plupart des cas, les auteurs insistent donc sur l'importance de la détection des parasites par la microscopie alors même qu'il s'agit d'un des maillons les plus faibles du système comme on le verra plus loin. On ne connaît, en effet, ni la signification exacte de la densité parasitaire (DP) mesurée dans le sang périphérique par rapport à la charge parasitaire totale chez un individu (Babiker et al. 1998), ni celle d'une valeur de la DP mesurée une seule fois, en relation ou non avec la fièvre, alors que la DP peut varier du simple au centuple au cours de la même journée (Delley et al. 2000) (voir aussi notre propre contribution plus bas). La question du bon usage et de la maintenance des équipements de laboratoire dans les structures périphériques reste, par ailleurs, toujours aussi problématique.

L'introduction, dans les mêmes conditions, des « tests rapides », est souvent considérée comme la solution alternative la plus souhaitable (Wongsrichanalai et al. 2007). On oublie cependant que ces procédures n'amènent qu'une amélioration de la simplicité d'usage par rapport aux examens hématologiques classiques, mais ne résolvent en aucun cas le problème du « gold standard », ni ceux de la prise en compte d'autres facteurs influençant la maladie, tel que le degré d'endémicité, la saison, l'âge, l'accessibilité réelle aux soins, etc., ni évidemment celui du coût, donc de la disponibilité (Ndiaye et al. 2001).

Il faut aussi relever l'erreur méthodologique importante résultant de l'utilisation d'un « gold standard » discutable. En effet, la plupart des praticiens et des chercheurs, en présence d'une fièvre, utilisent la détection du parasite comme « preuve » de son origine palustre (Muhe et al. 1999) ; (Chandramohan et al. 2001). D'autres, cependant, admettent que la DP est plutôt une mesure de l'exposition au parasite qui, dans un contexte environnemental précis et face à un tableau clinique donné, explique une partie des fièvres observées. La détection du parasite considérée dans la deuxième approche comme étant l'exposition fait partie dans la première approche de l'effet, violant par là le principe d'antériorité de l'exposition par rapport au cas, donc celui de causalité.

Etant donné par ailleurs, l'ignorance généralisée de l'évolution naturelle de l'infection plasmodiale dans les zones d'endémie, en particulier celle de savoir quelle proportion des infections aboutissent à des accès fébriles dits « simples » (1), quelle proportion des accès simples évoluent vers un accès dit « grave et compliqué » (2) et quelle proportion de ces derniers aboutissent au décès du patient

---

<sup>1</sup> Pour désigner la maladie, nous utiliserons le terme officiel français de paludisme plutôt que malaria; les deux termes sont cependant synonymes dans la plupart des usages actuels et dans le présent texte.

(3)<sup>2</sup>, on peut douter qu'il existe une façon simple et rationnelle d'apprécier le risque d'aggravation d'un accès fébrile simple, donc de la nécessité d'entreprendre d'urgence un traitement spécifique.

Il existe en fait davantage de travaux montrant à quel point, dans les zones endémiques, les individus sont capables de gérer « naturellement » leur charge parasitaire que d'études montrant quelle proportion d'infections et d'accès simples risque d'évoluer vers une forme grave et compliquée en fonction du niveau d'endémie, de l'âge et de la saison. Cette disproportion est paradoxale si l'on considère l'opinion actuelle qui considère comme contraire à l'éthique le fait de ne pas traiter un patient fébrile, en fonction du deuxième principe énoncé ci-dessus.

Si, de plus, l'on admet que la diversification récente des médicaments et des schémas thérapeutiques découle de l'évolution inéluctable de la résistance du parasite au médicament, et non l'inverse, l'on peut s'attendre à une nécessité de plus en plus impérieuse de poser un diagnostic de certitude avant d'entreprendre tout acte thérapeutique. Or, pour être à même d'afficher une telle certitude, les questions posées plus haut devraient préalablement trouver une réponse. Dans l'intervalle, il semble que l'approche clinique subjective adoptée jusqu'ici reste la seule possibilité applicable, pour autant que la formation et l'accessibilité des/aux personnels soignants soient assurés.

Une hypothèse collatérale qui va être développée dans ce travail, est que les principes régissant le diagnostic et le traitement de l'infection et de la maladie palustre sont parmi les moins scientifiquement fondés et, comme c'est généralement le cas, les plus rigidement accrochés aux procédures établies.

Par ailleurs, partant de la réalité du fonctionnement des services de santé, en général plus que médiocre dans les zones les plus concernées, ainsi que la difficulté pour les populations périphériques d'y accéder et les frais occasionnés par une telle démarche fait supposer un biais de sélection des patients considérable, on peut valablement penser que les patients recrutés dans les centres de santé ont une plus grande probabilité d'être réellement atteint d'un accès palustre à potentiel évolutif grave que la majorité des « cas » traités ou non à domicile, mais n'ayant pas eu l'opportunité d'accéder au service de santé (Cox et al. 1994).

Enfin, l'apport diagnostique marginal de la mise en évidence des *Plasmodium* dans le sang capillaire dans les zones d'endémie (Ndyomugenyi et al. 2007, Perneger et al. 2006), implique que d'autres éléments comme le niveau d'endémicité, l'âge, la provenance, le moment de la consultation deviennent des éléments clés pour la décision de traiter.

On met également le doigt sur un certains nombres de problèmes bio-épidémiologiques plus généraux, reliés à certains aspects de l'endémie. Certains d'entre eux vont être discutés par la suite, comme par exemple les effets de la saisonnalité et la signification des indicateurs utilisés. Il est en effet rarissime en bio-épidémiologie de rencontrer des situations où une « constante biologique », ici la concentration sanguine en hémoglobine représentée par le taux d'hématocrite, subit des variations annuelles majeures touchant l'ensemble de la population, entre la saison sèche et la saison humide et ce, depuis des générations.

---

<sup>2</sup> (1)+(2)= taux de morbidité ; (3)= taux de létalité

# Diagnostic du paludisme depuis la découverte du parasite par A. Laveran et du cycle du parasite par R. Ross

## Découverte du parasite et décriptage de son cycle

La trace écrite de la description de « fièvres périodiques » remonte à Hippocrate. On retrouve ces fièvres de manière saisonnière en Europe dans les régions marécageuses jusqu'au milieu du XX<sup>e</sup> siècle. Malaria veut dire mauvais air en italien. On l'utilisait pour désigner l'air venant des marécages et qui selon des auteurs de l'époque causait ces fièvres mortelles. A la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle à la suite des travaux de Koch sur la découverte des bactéries, la théorie d'un germe causant la « malaria » est apparue et on parlait alors de *Bacillus malaria*. Mais la cause de ces fièvres mystérieuses a dû attendre l'affectation en Algérie d'un chirurgien militaire français. Le 20 octobre 1880 Charles Louis Alphonse Laveran décrit à l'examen de sang frais d'un patient fébrile, des corps mobiles qu'il suppose très justement être des parasites. Le cycle de la maladie est décrit 10 ans plus tard par Ronald Ross, jeune médecin de l'armée britannique s'appuyant sur le postulat de son collègue Manson qui voulait que la transmission se fasse par les moustiques. Ross et Laveran ont reçu le prix Nobel de médecine en 1902 et 1907 respectivement.

## Mise en évidence du parasite à des fins diagnostiques

Pour le clinicien, une méthode de coloration pour visualiser le parasite sur des préparations hématologiques standard devenait la seule possibilité de déceler l'infection dans les conditions d'un centre de santé équipé d'un laboratoire avec microscope. En 1888 Chenzinsky met au point une coloration faite d'un composant basique, le bleu de méthylène et d'un composant acide, l'éosine, permettant la visualisation des érythrocytes en violet, des leucocytes et des parasites en bleu. Par la suite, le perfectionnement de la coloration par l'oxydation d'une partie du bleu de méthylène a permis d'obtenir une gamme de couleur plus différenciée entre les composants cellulaires acides. En effet le bleu de méthylène n'a que peu de pouvoir colorant en soi. Mais le bleu de méthylène est une molécule instable qui s'oxyde et dont les dérivés colorent les noyaux leucocytaires en rouge-violet et la chromatine en rouge. La bonne proportion entre composés oxydés et non oxydés confère les nuances de coloration nécessaires à la lecture d'une lame. Mais l'instabilité de ce composant a représenté une difficulté majeure dans l'élaboration d'un colorant à la composition chimique fiable et reproductible. Le médecin allemand Bernhard Nocht développe un mélange d'éosine, de bleu de méthylène pur et d'un de ces dérivés le « *Rot aus Methylenblau* » obtenant ainsi une coloration satisfaisante de la chromatine parasitaire. Gustav Giemsa, de retour d'un périple de trois ans en Afrique Orientale comme chimiste et botaniste, reprit le travail de Nocht à l'« *Institut für Schiffs und Tropenkrankheiten* ». Il identifia une thiazine plus stable dans sa composition de bleu de méthylène polychromé que les versions précédentes. Durant la première guerre mondiale, les colorations allemandes dont les méthodes de productions étaient restées secrètes étaient difficiles à obtenir, poussant les Etats-Unis à produire des colorants similaires, développés en particulier par Wright qui laissa lui aussi son nom à une coloration actuelle. Même si les dérivés du bleu de méthylène responsables de la coloration précieuse en rouge violet des noyaux ont été isolés, bon nombre des effets de la coloration reste mystérieux, avec pour résultat des variations importantes selon les producteurs. La coloration dite « de Giemsa » utilisée pour la préparation hématologique appelée « goutte épaisse » représente aujourd'hui encore la référence dans le plus grand nombre d'études et de lieux de diagnostic (Woronzoff-Dashkoff, 2002).

## Premiers traitements

Le premier agent contre le paludisme vient d'Amérique du Sud. La légende raconte que la quinine a été nommée en référence à la comtesse de Cinchon qui jouissait d'une grande popularité et qui souffrit entre 1628 et 1629 de fièvre tierce. Cette nouvelle, parvint jusqu'à la ville de Lloxa gouvernée par un espagnol qui lui fit parvenir l'écorce d'un arbre réputé dans la région pour ses effets curatifs sur les fièvres tierces. La comtesse guérit rapidement et répandit l'utilisation de l'extrait d'écorce dans tout le Pérou.

En 1820 Pierre Pelletier et Joseph Caventou isolent les alcaloïdes actifs de la quinine, permettant une utilisation à des doses contrôlées.

Depuis la première découverte du parasite à l'origine de ces fièvres mortelles, l'avancée la plus importante a été le développement du premier agent synthétique antipaludique en 1926. Longtemps considéré comme trop toxique pour l'homme, il a fallu attendre les pertes massives de soldats durant la guerre du Pacifique pour relancer les recherches amenant à la découverte par les anglais du proguanil et du chlorproguanil. Au début des années 50, les amino-4-quinoléines, chloroquine et amodiaquine dans une moindre mesure, étaient les traitements de choix du paludisme. La découverte de ces antipaludiques de synthèse associée au développement d'insecticide à effet rémanent comme le DDT permet de voir naître l'espoir de l'éradication du parasite. L'OMS entreprend un tel programme à partir de 1957 qui atteint rapidement de bons résultats en zones subtropicales et tempérées. Mais le succès se fait attendre dans les pays déshérités et des résistances au DDT apparaissent rapidement. En 1961 on découvre la première souche de *Plasmodium falciparum* résistante aux amino-4-quinoléine.

## Evolution récente

L'évolution de la mortalité due au paludisme en Afrique montre une diminution nette durant les 30 premières années d'utilisation étendue de la chloroquine, entre 1960 et 1989. Après 1990 la mortalité attribuable au paludisme semble être remontée à des niveaux comparables à ceux de la période précédant 1960. Cette évolution, durant ces 15 dernières années, est vraisemblablement due en majeure partie au développement de résistance à la chloroquine. L'accessibilité informelle, sur les marchés, de la chloroquine à des fins d'automédication est une pratique qui s'est répandue durant les années 80, spécialement en Afrique.

D'autres explications de cette tendance ont été avancées : péjoration du niveau de santé général due aux restrictions imposées par le paiement des médicaments jusqu'alors gratuits (système du *recouvrement des coûts*), restrictions des aides internationales amenant la détérioration de la qualité de la prise en charge au niveau du centre de santé périphérique. Néanmoins l'accessibilité des soins dans les zones rurales aurait dû influencer l'évolution de la santé globale alors que seule la mortalité due au paludisme, avec celle liée au VIH, semble en augmentation, la mortalité due aux autres maladies semblant plutôt en régression. Le réchauffement climatique a également été invoqué comme cause de l'augmentation de la transmission et de la morbidité palustre mais les analyses relatant les tendances énoncées ci-dessus sont tirées de régions à transmission stable, où les changements climatiques ne sont probablement pas à l'origine d'augmentation significative de la mortalité.

Il est certain que cette évolution compare des études réalisées à près d'un demi-siècle d'intervalle impliquant donc des outils de mesure le plus souvent différents. Par ailleurs, la morbidité et la mortalité palustre sont en soi des indicateurs extrêmement difficiles à estimer.

## Hypothèse et objectifs

Ce travail vise à examiner l'**hypothèse** globale suivante :

L'approche habituellement proposée pour le diagnostic, la prise en charge et l'évaluation épidémiologique de l'accès palustre souffre d'importantes lacunes dues, en particulier au caractère *déterministe* de sa définition usuelle : (fièvre + parasites = maladie palustre). Partant d'une distinction nette entre *infection* et *maladie*, on cherche à établir une définition de la *maladie* qui devrait permettre d'établir les bases d'une prise en charge rationnelle et d'une évaluation valide de la morbidité et de la mortalité attribuable à l'infection.

La définition recherchée, en fonction des éléments disponibles actuellement, ne saurait être que *probabiliste* du fait que, ni les effets de l'infection, quelle que soit son importance apparente, ni les signes et symptômes de la maladie ne sont spécifiques, en particulier dans les zones endémiques.

Sur la base d'un programme de recherche mené par une équipe genevoise et une équipe malienne durant plus de 20 ans, les **objectifs généraux** de cette étape sont :

1. Mettre en évidence les lacunes les plus évidentes en matière de diagnostic et de prise en charge du paludisme en général et dans les conditions d'une zone rurale du sud du Mali.
2. Proposer des alternatives à la situation actuelle, basée davantage sur la tradition que sur des éléments scientifiques solides (*evidence based*).

## L'infection palustre

L'*infection palustre* chez l'homme est mise en évidence par la découverte d'un parasite du genre *Plasmodium* dans le sang périphérique. Quatre espèces appartenant au genre *Plasmodium* sur une centaine existantes peuvent infecter l'homme : *P. falciparum* ; *P. vivax* ; *P. malariae* et *P. ovale*. Chacune d'entre elles confèrent à la maladie certaines caractéristiques spécifiques, d'une utilité modérée dans la prise en charge des patients, à l'exception de l'infection à *P. falciparum*, seule à produire une affection aïgue potentiellement mortelle et dont il sera principalement question ici.

Le lien entre *infection* et *maladie* palustre n'est pas évident. L'infection est une condition nécessaire mais non suffisante pour parler d'*accès palustre* (maladie) chez un sujet fébrile. La probabilité de causalité entre l'infection et la fièvre dépend de nombreux facteurs, en particulier, de l'immunité acquise par le patient, laquelle dépend, entre autre, de l'âge du patient et du niveau d'endémie de la maladie dans un environnement donné.

Ainsi, chez un voyageur d'un pays industrialisé ou chez un jeune enfant d'une zone endémique, toute fièvre associée à des parasites dans le sang périphérique représente une forte chance d'être causée par l'infection plasmodiale. En effet, dans ces conditions, les sujets n'ont pas encore acquis les capacités nécessaires à une gestion immunitaire efficace de l'infection.

La situation est toute différente chez les adultes des zones endémiques. Les infections répétées permettent de développer une protection immunitaire partielle mais efficace contre les parasites et leurs effets potentiellement graves. Il faut, dans ce dernier cas, des circonstances particulières, comme la grossesse et certaines maladies réputées diminuer globalement les capacités immunitaires pour observer à nouveau les effets graves de l'infection.

### *Etudes longitudinales des infections palustres*

Les suivis longitudinaux fournissent quelques éléments de réponse quant à la cinétique de l'infection ainsi que la relation entre l'infection et l'expression clinique de celle-ci. Le suivi longitudinal des infections a été réalisé dans certaines études cliniques américaines chez des patients neurosyphilitiques infectés volontairement, et dans quelques études de terrain.

Le traitement de patients atteints de neurosyphilis par l'injection répétée de *Plasmodium falciparum* a permis d'étudier l'histoire naturelle de l'infection ainsi que son lien avec les manifestations de la maladie chez des patients dépourvus d'immunité spécifique. Les patients n'avaient, en principe, jamais été infectés auparavant par le *Plasmodium* bien qu'une infection préalable n'ait pu strictement être exclue puisque le paludisme était à cette époque, endémique dans certaines régions des Etats-Unis. Un peu moins de la moitié des patients étudiés n'a pas eu à bénéficier de traitement (par la quinine). Celle-ci était administrée en cas d'augmentation soudaine et importante de la parasitémie, d'anémie sévère, de fièvre non contrôlable, de splénomégalie, de sensation d'épuisement, de cyanose, d'œdèmes, de convulsions ou de perturbations rénales. La mesure de la densité parasitaire était quotidienne (Collins and Jeffery 1999).

Les sujets ayant nécessité un traitement présentaient, en moyenne, une plus grande fréquence des accès de fièvre et des parasitémies plus élevées, y compris pour les gamétocytes. La durée de l'infection variait selon la souche et se situait à 100 jours en moyenne. La fièvre (>40°C) survenait généralement dans les 25 premiers jours de parasitémie détectable, bien que 10 à 20 % des patients aient eu des fièvres modérées avec parasitémie > 1000/ $\mu$ l durant une période plus longue. La

période de hautes densités parasitaires ( $> 10,000 \text{ p}/\mu\text{l}$ ) survenait dans les 2 à 3 semaines après que l'infection ait été détectée. Quelques cas montraient des pics parasitaires au-delà de 75 jours.

Chez les sujets réinfectés expérimentalement, (Collins and Jeffery 1999) le nombre d'épisodes de fièvres ainsi que la parasitémie moyenne diminuait aussi bien lors de réinfection par des souches homologues qu'hétérologues. Ainsi l'exposition à une souche donnée ne semble pas conférer de protection complète vis-à-vis de celle-ci. En revanche, l'immunité développée contre une souche donnée protégerait partiellement contre certaines autres souches. De plus, lorsqu'une nouvelle souche était introduite elle se manifestait le plus souvent par de la fièvre, alors que l'évolution naturelle d'une infection montrait des pics de parasitémies apparaissant à intervalles réguliers de 3 semaines en moyenne avec un nombre de 1 à 6 pics avec des parasitémies moyennes dégressives de  $40'350 \text{ p}/\mu\text{l}$ ,  $6'975 \text{ p}/\mu\text{l}$ ,  $5'090 \text{ p}/\mu\text{l}$ ,  $3'820 \text{ p}/\mu\text{l}$ ,  $3'455 \text{ p}/\mu\text{l}$ ,  $2'375 \text{ p}/\mu\text{l}$ , asymptomatiques pour la plupart. On a émis l'hypothèse que ces derniers pourraient être attribués à la variation génique de la souche infectante suggérant une plus grande protection contre les variants survenant chez l'hôte que contre les variants ou souches introduites nouvellement (Collins and Jeffery 1999). Aussi bien lors de l'infection primaire que lors de l'infection secondaire, la fièvre survient lors de pics de parasitémie. Par contre la parasitémie peut subsister longtemps sans pour autant provoquer de fièvre.

Des suivis longitudinaux communautaires ont également permis d'étudier à l'aide de la méthode ultra-sensible de la PCR<sup>3</sup> la capacité des enfants à tolérer la présence de parasites sans faire de fièvre, tolérance attribuée aux anticorps maternels puis au développement de l'immunité anti-palustre de l'individu (Wagner et al. 1998) (Farnert et al. 1997). La caractérisation des différentes souches a permis de montrer une apparition et une disparition fréquente et aléatoire des infections, révélant ainsi le rôle de réservoir d'infections multiples de chaque individu. Un autre suivi longitudinal mensuel par microscopie et méthode PCR, chez des enfants de moins de 2 ans, dans une région à transmission stable basse à modérée (5-10 piqûres infectantes par personne et par année), montre que la majorité des infections dure moins de 4 semaines, que 40% des enfants ont au moins une infection d'une durée  $> 12$  semaines, que la durée de l'infection augmente avec l'âge ainsi que le nombre de génotypes présents (Franks et al. 2001). Dans cette cohorte, le paludisme clinique est une conséquence rare de l'infection par le plasmodium ce qui est étonnant puisqu'on s'attendrait à une incidence élevée d'infections symptomatiques dans cette classe d'âge peu immune, résultats confirmés par d'autres études (Delley et al. 2000)<sup>4</sup>.

### ***Variabilité de la parasitémie observée dans le sang périphérique***

Il existe encore aujourd'hui une croyance assez généralisée en la valeur de la numération des hématies parasitées telle qu'on la réalise usuellement dans les laboratoires cliniques suite à un prélèvement de sang capillaire et une préparation type « goutte épaisse ». Les aspects techniques de la méthode et leur évaluation sont discutés ailleurs. Nous nous focaliserons ici sur la question de la « représentativité » des valeurs ainsi obtenues pour estimer la charge parasitaire globale d'un

---

<sup>3</sup> On retrouve une population de porteurs du parasite asymptomatique, et à plus forte raison que les outils diagnostiques deviennent plus sensibles avec l'avènement de techniques telles que la PCR.

<sup>4</sup> L'étude a été réalisée dans le village de Bougoula au sud du Mali dans une région hyper endémique à transmission saisonnière avec des précipitations situées entre 1100 et 1400 mm/an, avec 75% des précipitations entre juillet et septembre. Un suivi longitudinal communautaire de 9 jours avec mesure de la fièvre et de la parasitémie au jour 1, 3, 6 et 9 a été réalisé chez 1000 enfants entre 1 an révolu et 12 ans. 37 enfants ont présenté une parasitémie  $> 10\,000 \text{ p}/\mu\text{l}$ , dont 14 étaient initialement fébriles. Parmi les 23 enfants initialement afebriles, 5 ont développé une fièvre au cours du suivi. Parmi ces 23 enfants 20.9% deviennent négatifs au jour 3. Parmi ceux restés positifs jusque-là, 19% deviennent négatifs jusqu'au jour 9.

individu. La « charge parasitaire globale » chez un individu, actuellement impossible à déterminer, représente probablement l'un des facteurs principaux de la fréquence et de la potentielle gravité des accès. Bien souvent, l'estimation est faite sur un seul prélèvement et notre question a été celle de la variabilité d'une telle mesure répétée plusieurs fois dans une même journée.

### *Chez les adultes*

La réponse pour des adultes jeunes de sexe masculin prélevés à trois reprises dans la journée durant deux semaines a été donnée (Delley et al. 2000). Elle est claire : entre le matin et le soir, la concentration parasitaire observée chez ces sujets à l'aide des techniques indiquées peut varier d'un facteur de 1000 (mille ;  $10^3$ ) en quelques heures. Les deux conclusions à tirer de ces observations sont 1) que la densité parasitaire mesurée à la périphérie dans le sang capillaire n'est pas un indicateur stable de la charge parasitaire totale chez un individu, *le phénomène biologique explicatif d'une telle variabilité n'étant pas encore connu (voir plus bas)*. 2) une seule mesure ne saurait en aucun cas être le seul élément pour apprécier la densité parasitaire chez un individu adulte.

A l'évidence, cette variabilité va se répercuter dans les études cliniques et surtout épidémiologiques mais n'est jamais prise en compte dans l'interprétation de leurs résultats.

Par ailleurs, pour des raisons éthiques, il n'a pas été possible d'apprécier cette possible variabilité chez les enfants qui ne sauraient être prélevés de façon itérative sur plusieurs jours. Une autre méthode a donc été utilisée, exposée dans l'annexe de ce travail. Les conclusions en sont globalement similaires.

Les suivis longitudinaux avec prises de sang quotidienne ou à intervalles de 8 ou 12 heures effectués en milieu endémique sont rares. Comme on l'a vu ci-dessus, ceux-ci montrent une importante variabilité de la parasitémie dans des laps de temps de quelques heures. Lors d'un suivi de la parasitémie à 6 heures d'intervalles, parmi une population de jeunes adultes, (Delley et al. 2000) on retrouve fréquemment des changements du simple au centuple entre 2 prises de sang. De plus, tous les individus infectés ont présenté des frottis négatifs durant le suivi, résultats observés également dans d'autres études (Guiguemde et al. 1992)<sup>5</sup> (Farnert et al. 1997 & Bjorkman 1997)<sup>7</sup> (Simpson et al. 2002).

La question de savoir si la variabilité observée est comparable chez les patients fébriles et afébriles d'une part, immuns et non-immuns d'autre part, reste sans réponse à ce jour.

---

<sup>5</sup> Dans une région holo-endémique au Burkina Faso la variabilité de la parasitémie a été étudiée chez 44 enfants entre 6 et 8 ans, avec prise de sang 3x par jour (8, 14 et 20 h) au jour 0 puis au jour 4. L'étude de la variation nyctémérale a montré : parmi les 44 sujets étudiés, 35 sujets avaient une parasitémie positive à l'un au moins des 3 prélèvements, 9 étaient négatifs à toutes les prises de sang. Sur les 35 sujets avec au moins une parasitémie positive, 16 ont eu une goutte épaisse positive à toutes les prises de sang, chez les 19 autres, il y a eu au moins une négativation. Il faut relever que le seuil de détection a été évalué dans cette étude à 200 p/μl.

La comparaison des résultats entre le jour 0 et le jour 4 a montré : parmi les 35 sujets positifs à l'un des 3 prélèvements au jour 0, une positivité a été retrouvée chez 24 sujets au jour 4. Parmi les 16 sujets positifs aux 3 prélèvements du jour 0, 7 sont devenus négatifs aux 3 prélèvements du jour 4.

<sup>6</sup> De la même manière on peut relever dans un suivi longitudinal d'enfants asymptomatiques entre 2 et 12 ans en Tanzanie dans une région holo-endémique à transmission pérenne, le cas d'un enfant qui a développé une fièvre transitoirement avec une densité parasitaire le jour de la fièvre de seulement 25 p/μl. Et une parasitémie le jour avant et le jour suivant la fièvre de 18 080 et 1225 p/μl. respectivement.

<sup>7</sup> La surveillance des patients atteints de neurosyphilis infectés par *Plasmodium vivax* ont également permis d'étudier la cinétique d'infections primaires synchrones. Celle-ci a montré une fonction de la parasitémie sinusale dont l'amplitude se trouve entre 1.5 et 2.5 log 10 parasites/μl

Cette question essentielle a des implications dans le diagnostic de l'infection par microscopie ou par « test diagnostique rapide » (RDT) et dans l'utilisation de *seuils de densité parasitaire* pour définir la causalité de l'association entre fièvre et infection.

La multiplication naturelle du parasite ne saurait, quoi qu'il en soit, expliquer l'amplitude considérable de ces variations en un temps aussi court. Des phénomènes de séquestration-relargage et de synchronisation resynchronisation ont été avancé (White et al. 1992)<sup>8</sup>.

Il a ainsi été postulé que le phénomène de synchronisation survient lors de la montée de fièvre, ce qui n'est toutefois pas le cas dans plusieurs études, où la dynamique cyclique avec disparition des parasites par intervalles réguliers de 48 heures témoigne d'une certaine synchronisation chez des enfants afébriles infectés chroniquement (Farnert et al. 1997 & Bjorkman 1997) (White et al. 1992).

La variabilité de la parasitémie pourrait, par ailleurs, être influencée par la nature polyclonale d'une infection. En effet la présence de plusieurs souches, dont les cycles de séquestration-relargage sont asynchrones diminuerait la variabilité ainsi que les faux négatifs à l'examen hématologique. Certains auteurs en ont conclu que les patients étudiés dans l'étude de Delley pourraient présenter des infections « pauci » clonales ce qui expliquerait la grande variabilité observée (Rogier et al. 1996) (Delley, Thèse pour le doctorat es sciences, Genève, 1998). Néanmoins, l'étude s'étant déroulée dans une région caractérisée par une forte endémicité (indice splénique aux alentours de 25% et indice plasmodique constamment supérieur à 50%) et dans un échantillon de jeunes adultes à infections très probablement polyclonales, une telle objection n'est pas explicative, le nombre de clones par tranche d'âge est le plus petit chez les nourrissons, le plus grand chez les enfants de 5 ans dans les zones à fortes endémies, puis semble diminuer avec l'âge (Smith et al. 1999).

Qui plus est, des études par PCR ayant tenté de caractériser les différentes souches de *Plasmodium* ont montré des infections « pauci » -clonales durant les accès cliniques plutôt que chez les sujets asymptomatiques (Contamin *et al.* 1996b). Cette constatation soutient la théorie selon laquelle des souches dominantes responsables des manifestations cliniques « inhiberaient » les souches préexistantes, ou celle d'un effet destructeur de la fièvre sur les anciennes souches (Kwiatkowski et al. 1989). Ces constatations laissent suspecter que la variation de la parasitémie est différente dans une population asymptomatique et dans un échantillon de patient durant un accès palustre.

En pratique, on pourrait imaginer qu'étant donné le passage fréquent d'une parasitémie nulle à une parasitémie parfois importante, un certain nombre d'accès cliniques ne seraient pas détectés. Cela ne semble cependant pas être le cas lors de suivis longitudinaux communautaires (Luxemburger et al. 1998)<sup>9</sup>(Njama-Meya et al. 2007)<sup>10</sup>. Cependant, la faible proportion d'enfants fébriles sans parasites observables et dont la fièvre persiste avec une parasitémie détectable par la suite, pourrait aussi être la traduction de l'évolution naturelle (comme on l'a vu ci-dessus dans l'étude de Collins), vers la résolution naturelle d'un grand nombre de cas de fièvre, avec ou sans parasites observables.

Enfin, la variabilité importante de la parasitémie dans un court laps de temps, caractéristique de toutes les études qui l'ont cherchée, met en question le bien-fondé des efforts déployés pour aboutir

---

<sup>8</sup> Un autre suivi de la parasitémie toutes les 6 heures chez 4 patients dont 2 patients non-immuns et 2 partiellement immuns sous traitement de Ciprofloxacine montre une cinétique de synchronisation avec une variabilité sinusoidale de la parasitémie, plus régulière que lors du suivi de V. Delley dont l'amplitude varie entre les patients mais se situe entre  $10^3$  et  $10^5$  p/μl.

<sup>9</sup> Lors du suivi, parmi les enfants présentant une fièvre sans parasitémie détectable, un très petit nombre a développé une fièvre persistante avec une parasitémie détectable dans la semaine qui a suivi la première prise de sang.

<sup>10</sup> Dans cette étude, une goutte épaisse a été effectuée chez tous les enfants présentant une suspicion d'accès de paludisme et seul ceux ayant un examen positif ont été traités. Parmi les enfants avec un test négatif, moins de 1% ont développé un accès de paludisme, et il n'y a pas eu de cas compliqué.

à une mesure plus précise de la parasitémie *in vitro* que l'on retrouve dans la littérature même récente (Murray et al. 2003) (Coosemans et al. 1994 , Dubey et al. 1999 , Planche et al. 2001 ).

Ces observations mettent également en cause l'utilisation du seuil de densité parasitaire pour "la confirmation" du diagnostic d'accès palustre et son utilisation en tant que "*gold standard*" pour l'évaluation de la performance des examens de diagnostic.

#### *Chez les enfants*

Une telle variation s'observe aussi chez les enfants de 2-12 ans. ***L'annexe I en présente une démonstration réalisée par Elia, N. et Szeless, Th. (article soumis).***

#### ***Phénomène de séquestration relargage***

La séquestration d'hématies parasitées dans les organes profonds est une particularité de l'espèce *P. falciparum*. Elle a été prouvée par des recherches histologiques lors d'autopsie de cerveaux de patients présumés décédés de paludisme. Lors de l'examen pathologique on constate une répartition inégale des formes de parasites entre la périphérie et les organes profonds avec une prédominance des formes jeunes en périphérie et des formes plus matures adhérents aux vaisseaux des organes, bien que dans cette étude, une proportion étonnamment grande de formes jeunes a été retrouvée dans le cerveau. Les formes jeunes n'ont en principe pas la capacité d'adhérence, suggérant que leur accumulation pourrait être due à des modifications des charges de surface ou de la rigidité de la membrane cellulaire avec pour résultat une modification de la microcirculation et une accumulation d'érythrocytes parasités dans les vaisseaux cérébraux. On a montré que la flexibilité de la membrane des érythrocytes parasités est diminuée et que ce facteur serait prédictif de la gravité de la maladie. Le regroupement segmentaire de parasites au même stade de développement suggère que des segments vasculaires exprimeraient des récepteurs de surface d'adhérence, permettant aux érythrocytes circulants matures de se fixer à celles-ci. Cette constatation signifierait qu'une fois l'adhérence confirmée, elle est définitive ce qui expliquerait partiellement ces segments vasculaires obstrués par des érythrocytes contenant des parasites au même stade de développement (Silamut et al. 1999).

La capacité de l'espèce *P. falciparum* à adhérer aux parois vasculaires et à se distribuer selon leur stade de développement entre les compartiments profonds et périphériques constitue donc une explication possible au phénomène de séquestration évoqué plus haut, qui rend le parasite fréquemment indétectable dans le sang capillaire. La protéine d'adhérence PfEMP-1 et sa variation antigénique importante jouent un rôle central dans le phénomène de séquestration et permet au parasite d'échapper à l'immunité spécifique et se multiplier librement.

### ***Modèle de développement de l'immunité***

Sur la base d'observations épidémiologiques répétées, il s'est avéré, en particulier dans les zones de fortes endémies, que la découverte de *plasmodium* intra-érythrocytaire dans le sang périphérique des individus aussi bien symptomatiques qu'asymptomatiques représentait la règle plutôt que l'exception<sup>11</sup> (Trape et al. 1985).

Quels phénomènes expliquent alors le développement d'une « infection palustre sans maladie palustre » ? On retrouve dans les zones hyper à holo-endémiques, chez les enfants entre 2 et 4 ans, des HDP asymptomatiques, phénomène qu'on attribue à la production d'anticorps IgM anti-TNF, appelé immunité anti-maladie (contrôlant la maladie) ou antitoxique ou tolérance physiologique, qui permet à l'individu de supporter des HDP avant de développer de la fièvre. L'observation de la parasitémie en fonction de l'âge révèle que la densité parasitaire moyenne la plus élevée se situe dans la tranche d'âge des 5 à 9 ans ou beaucoup plus tôt dans des zones à très forte endémie, dans la tranche d'âge des 6 à 11 mois (Bloland et al. 1999), alors que la fraction des fièvres attribuables au paludisme est maximale dans la tranche d'âge de 2 à 4 ans ce qui est compatible avec le développement rapide de l'immunité anti-maladie (Smith et al. 1995).

Ces défenses se développent, en fonction du niveau d'endémie, aux alentours de 6 mois (McGuinness et al. 1998) (Prybylski et al. 1999)<sup>12</sup>. Chez les nourrissons de moins de 6 mois on retrouve de faibles densités parasitaires asymptomatiques, l'enfant étant probablement protégé par les anticorps maternels. L'immunité anti-maladie s'acquiert rapidement dans les premières années de vie et modifie la gravité d'un accès palustre. Au contraire l'immunité antiparasite (contrôlant la parasitémie) s'acquiert lentement et nécessite une stimulation polygénique répétée. Ainsi la tolérance physiologique, qui se mesure par le risque de fièvre à une densité parasitaire donnée, diminue avec l'âge ce qui est en contradiction avec le fait que le taux de morbidité semble diminuer avec l'âge. On se l'explique par le fait que le développement de l'immunité antiparasite contrôlerait progressivement la densité parasitaire au fur et à mesure des expositions successives au parasite, l'immunité antiparasite diminuerait parallèlement, menant donc à une fièvre, lors d'injections de souches inconnues (Smith et al. 1994).

En d'autres termes, dans une région endémique, face à une fièvre la présence de parasite n'est pas une condition suffisante pour affirmer le diagnostic d'accès palustre. A l'inverse, face à une fièvre, l'absence de parasites décelables sur un frottis périphérique est nécessaire et procure une meilleure probabilité pour l'exclusion du diagnostic, bien que les parasites puissent, dans certains cas, être présents mais non détectés comme on le verra dans les chapitres suivants en raison du manque de *sensibilité* de la méthode de détection utilisée et/ou du *phénomène de séquestration-relargage*.

---

<sup>11</sup> Ainsi dans les régions holo-endémiques, on retrouve une proportion d'individus infectés de 80% chez les enfants entre 1 et 14 ans et de 36% chez les personnes de plus de 40 ans, la présence de parasites dans le sang est donc la règle plutôt que l'exception.

<sup>12</sup> Dans l'étude de Prybylski au Pakistan la densité parasitaire moyenne est maximale dans la tranche d'âge des 18 à 29 ans, de 2160 p/μl. et la prévalence de parasite est maximale dans la tranche d'âge 13 à 17 ans, de 17%.

Enfin, dans une étude utilisant la méthode par PCR la caractérisation des différents clones de *Plasmodium* infectants a permis de montrer que la survenue d'un nouveau clone n'était pas forcément accompagnée de manifestations cliniques (Franks et al. 2001).

Une étude longitudinale qui s'est déroulée dans une région hypo endémique à transmission saisonnière a montré une persistance chez 40% des patients d'une parasitémie composée de clones multiples durant la saison sèche (Babiker et al. 1998). On retrouve dans cette population une variation importante parmi les allèles détectés. A la saison de haute transmission, la multiplicité est plus importante qu'en saison sèche et les accès cliniques survenant au début de la saison des pluies sont associés à des infections par un nouveau génotype (Contamin et al. 1996). Cette dernière constatation soulève l'hypothèse que la réapparition des anophèles au début de la saison humide ingérant les clones multiples des personnes infectées chroniquement permet la survenue d'une recombinaison et l'émergence d'un nouveau génotype responsable de l'augmentation importante de la morbidité palustre à la saison humide.

### ***La mesure de l'infection palustre***

#### *La « goutte épaisse » et le « frottis sanguin »*

La goutte épaisse (*thick smear*) est réalisée en déposant une goutte de sang au milieu d'une lame de microscope et, à l'aide d'une autre lame, la goutte de sang est étalée jusqu'à obtenir un diamètre de 10 à 15 mm. Lorsque les étalements sont secs, la lame est prudemment hémolysée dans de l'eau distillée puis fixée / colorée par le colorant de Giemsa ou de Field. Pour l'étalement (ou frottis mince ou *thin smear*) une goutte de sang plus petite que pour la goutte épaisse est prélevée. La tranche d'une autre lame est mise au contact de la goutte de sang selon un angle d'environ 45°. Par capillarité, le sang se répartit tout le long du dièdre formé par les deux lames ; puis on pousse la lame supérieure vers l'avant pour obtenir un étalement monocellulaire qui est ensuite fixé et coloré. La « goutte épaisse » permet d'examiner un volume sanguin 20 x plus important que le frottis « mince » et permet un dépistage du parasite plus sensible mais se montre incapable d'un diagnostic d'espèce ni du stade de développement du parasite. Le frottis « mince », moins sensible mais plus spécifique, permet un diagnostic d'espèce et la caractérisation morphologique des stades de développement du parasite. Etant donné le peu de sang examiné par cette dernière méthode (100 champs représentent entre 1/100 et 1/200 microlitres), la probabilité qu'un microscopiste même expérimenté ne détecte pas une parasitémie inférieure à 200/ $\mu$ l est élevée.

#### *Erreurs intrinsèques à la méthode et erreurs dues à l'expérience du microscopiste*

La « goutte épaisse » présente aussi ses limites en termes de sensibilité et de spécificité. D'abord l'examen est tributaire de l'état souvent désastreux du microscope et des colorants, influençant la qualité intrinsèque de l'examen. Ensuite l'examen est réalisé par une personne dont les compétences, le degré d'attention, le temps passé à observer une lame, influenceront de manière conséquente respectivement la sensibilité et la spécificité (Kilian et al. 2000). En cas de lecture hâtive d'une lame, les parasites peuvent ne pas être détectés, soit par inattention soit par confusion avec des artéfacts. De plus, le nombre de lames qu'un microscopiste expérimenté peut examiner en une journée est limité par la concentration et le temps nécessaire à leur lecture. Il est estimé entre 50 et 60 lames quotidiennement pour une analyse de 100 champs par étalement (Dowling et al. 1966). Donc la microscopie présente d'une part des limites intrinsèques à la méthode et d'autre part celles liées à sa mise en pratique conditionnées par l'expérience et le degré d'attention du technicien à lire une goutte épaisse. On estime ainsi que la limite de la détection de la microscopie se situe selon les études entre 20 p/ $\mu$ l (Arora et al. 2003) et 40 p/ $\mu$ l (Franks et al. 2001). Les limites intrinsèques à la méthode peuvent être estimées par les études comparant la méthode par PCR avec la « goutte

épaisse » réalisée dans les centres de référence, le plus souvent dans les consultations de retour de voyage ou de santé des migrants (Rubio et al. 1999)<sup>13</sup>, ou dans les pays en voie de développement<sup>14</sup> (Owusu-Agyei et al. 2002). Quant à celle liées à l'examineur, elles se vérifient lors du contrôle de qualité par des laboratoires spécialisés, des gouttes épaisses réalisées en périphérie<sup>15</sup> (Barat et al. 1999, Chandramohan et al. 2001, Coleman et al. 2002, Oster et al. 2000)<sup>16</sup>. Les résultats sont extrêmement variable entre les pays et les études (Hemme et al. 1998); (Oster et al. 2000).

### *Erreur de double lecture*

Lors de la comparaison des mesures de parasitémies entre deux lecteurs expérimentés, les différences surviennent surtout pour des parasitémies inférieures à 100 p/μl et supérieures à 20 000 p/μl. (Kilian et al. 2000) La discordance des résultats pour des densités parasitaires élevées provient de la difficulté de dénombrer les parasites lorsque leur nombre est élevé dans un champ microscopique. La discordance pour les basses densités parasitaires provient de la difficulté de déceler un petit nombre de parasites dans un grand nombre de champs à examiner et de différencier entre les artefacts et les parasites.

En outre, la mesure de la parasitémie s'effectue en mesurant la proportion entre parasites et globules blancs pour la « goutte épaisse », parasites et globules rouges pour le frottis mince. Le nombre « standard » de globules blancs, est situé selon les auteurs, entre 4000 et 8000 par microlitres. Ce genre d'estimation, d'un usage généralisé, est cependant sujet à deux biais majeurs ; d'une part, le nombre moyen de globules blancs dans une population donnée n'est pratiquement jamais connu alors même que c'est lui qui sert de base à toutes les estimations ; d'autre part, l'utilisation pour un *individu*, d'un standard *populationnel* imposerait l'expression du résultat en terme de moyenne associée à un *intervalle de confiance*, ce qui n'est jamais fait dans la pratique (et même en théorie ...). Pour les « frottis minces », on estime la concentration parasitaire en % des globules rouges infectés. Le résultat est parfois transformé en nombre absolu par microlitre par un calcul basé sur les mêmes principes et sujets aux mêmes biais que ci-dessus.

---

<sup>13</sup> Parmi 25 hôpitaux en Espagne, le diagnostic microscopique a été vérifié par PCR et a montré que celle-ci détecte 12.4 % de cas positifs et 13 % d'infections mixtes en plus de ceux mis en évidence par l'hématologie.

<sup>14</sup> Durant une étude populationnelle la comparaison de la microscopie effectuée par des spécialistes avec la méthode par PCR a montré une sensibilité de 81.3% et une spécificité de 78.6%. (Owusu-Agyei et al. 2002). Il faut relever que les faux négatifs ont été obtenus surtout avec de très basses densités parasitaires chez les sujets plus âgés ou les nourrissons. De plus ces valeurs sont obtenues par des techniciens en laboratoire spécialisés dans le domaine.

<sup>15</sup> En périphérie le manque d'expérience des microscopistes et le matériel défectueux résulte en une proportion de faux positifs de 2.1% et de faux négatifs de 6.7% lors d'un contrôle par un centre de référence du paludisme sur un grand nombre de lames prélevées dans des centres de santé en Inde (Chandramohan et al. 2001).

Chez Barat au Madagascar le contrôle par des parasitologues expérimentés des lames effectuées dans un centre de santé périphérique montre une sensibilité de 88 % et une spécificité de 91 %. En Tanzanie dans l'étude de Oster le contrôle de qualité des gouttes épaisses a montré une sensibilité de 55% et une spécificité de 72% parmi une population ayant un indice plasmodique de 14 %. La raison invoquée pour ces résultats médiocres est la présence de vieux matériel ainsi que d'un personnel peu motivé et pas suffisamment qualifié et enfin la lecture d'un grand nombre de lames par jours, jusqu'à 100 par jour.

<sup>16</sup> Dans l'étude de Coleman, dans un contexte communautaire en Thaïlande, dans une population pour la plupart asymptomatique, les résultats de microscopies réalisées en périphérie ont été répétés par des spécialistes. La spécificité est de 99.3% pour *P.falciparum* et la sensibilité dépend de la densité parasitaire, et est respectivement pour les parasitémies > 5000 p/μl de 100 %, celles entre 500 et 4999 p/μl de 16.7 % et celle entre 50 et 500 p/μl de 5.1 % pour *P.falciparum* et un peu meilleur pour *P. vivax*. Il est à noter que dans cette étude seulement 100 champs ont été étudiés avant d'affirmer qu'une goutte épaisse est négative. Dans l'étude de Hemme, lors d'un contrôle de qualité de plusieurs centres de santé périphériques la sensibilité se situait aux alentours de 93 % et la spécificité vers 96 %.

## Tests rapides de diagnostic (RDT)

L'émergence de nouvelles combinaisons de médicaments efficaces mais plus chers, a poussé les organisations propageant ces médicaments à diagnostiquer le paludisme clinique de manière plus spécifique que par un diagnostic clinique en se munissant de nouveaux moyens laboratoires. La parasitologie, décrite au paragraphe précédent, toujours considérée comme le « gold standard », reste absente dans beaucoup de régions impaludées, car elle nécessite un laboratoire équipé, objet d'une maintenance rigoureuse, ainsi que des compétences techniques, dont la qualité est trop fortement dépendante de l'opérateur, raisons pour lesquelles on s'est tourné vers des tests rapides de diagnostic (RDT) dès que ceux-ci ont été disponibles. Ils ont l'avantage d'être rapides (la plupart du temps ...) et, en principe, faciles d'utilisation, ne nécessitant que peu de compétences techniques. Les deux tests les plus utilisés actuellement sont dénommés ICT et OptiMal. Par une méthode immunochromatographique, l'OptiMal détecte un enzyme spécifique à l'espèce, lactate déshydrogénase parasitaire, la pLDH produite par les parasites vivants. Le ICT détecte par la même méthode une protéine de surface, hydrosoluble, riche en histidine appelée HRP-2 (*Histidine Rich Protein 2*).

Pour exclure raisonnablement un accès de paludisme, un test rapide doit présenter une sensibilité dépassant 95 % (WHO, Report of a joint WHO/USAID Informal consultation, October 25-27. 2000. Geneva : WHO). Celle des tests en question se situe, pour *Plasmodium falciparum*, entre 85% et 100% selon les études (Wongsrichanalai et al. 2007). Leur performance globale dépend de la densité parasitaire, de la population étudiée et des conditions de stockage des produits. Pour la densité parasitaire, elle diminue selon les études pour des parasitemies entre 100 et 500 p/microl (Ndao et al. 2004), et pour des densités parasitaires inférieures à 100p/microl dans un contexte de pays industrialisés (Marx et al. 2005)<sup>17</sup>. On peut relever que le seuil de parasitemie à partir duquel le test rapide devient raisonnablement sensible varie considérablement selon les études et ce pour des seuils suffisamment élevés pour avoir une utilité clinique (Huong et al. 2002). Ces différences sont particulièrement marquées entre les études réalisées dans un contexte endémique et un contexte de retour de voyage. Les raisons de ces différences restent sujettes à de nombreuses hypothèses. D'abord la qualité des tests est dépendante des précautions de conservation de ces produits, de la température et de l'humidité ambiante. Ensuite les résultats dépendent de l'opérateur qui doit avoir bénéficié d'une formation suffisante, au moins similaires à ceux obtenus en recherche (Cho-Min-Naing et al. 2002). De plus, ils sont également variables de lot en lot par manque d'un contrôle de qualité rigoureux. Une autre hypothèse serait une variation régionale des déterminants génétiques de pLDH et de l'antigène pan-malarique de l'ICT par mutation ou délétion du gène codant pour l'antigène HRP-2 (Moody 2002). Enfin, certains auteurs ont postulé que la sensibilité moindre dans les populations immunes pourrait être attribuable à la concentration élevée d'anticorps masquant l'antigène cible du test rapide (Farcas et al. 2003).

---

<sup>17</sup> Pour ces basses densités parasitaires, on obtient des valeurs de sensibilité entre 80 et 90 %, et selon d'autres auteurs des sensibilités moindres pour des parasitemies inférieures à 1000 p/microl, entre 27 et 88 % pour le ICT et entre 9 et 29% pour le Optimal et entre 55 et 88% pour le Paracheck-pf (Huong et al. 2002b). En-deça de 500 p/microl on trouve pour l'ICT des sensibilités aux alentours de 95 %, ou même à 100 % pour un seuil de parasitemie plus élevé (Coleman et al. 2002).

Le test OptiMal est, dans la plupart des études comparatives, d'une sensibilité moindre, située entre 85 et 95 %, qui s'élève en-dessus de 95 % pour des parasitemies dépassant 100 p/microl ; d'autres études montrent une faible sensibilité, de 72 % pour des parasitemies dépassant 300 p/microl. (Mason et al. 2002). Comparé à la PCR comme référence on obtient également des sensibilités aux alentours de 97 % pour des parasitemies dépassant 500 p/microl.

Un autre désavantage des tests rapides réside dans le fait qu'ils sont tous uniquement qualitatifs hormis le HRP-2, semi quantitatif. Il est à noter, par contre, que ce dernier reste positif durant des semaines après un accès palustre, ce qui pose problème dans un milieu endémique.

Le prix des tests rapides se situe entre 0.55 et 1.5 US \$, ce qui représente une limitation à leur utilisation. En effet même avec un prix 10 fois moindre, ceux-ci resteraient hors de portée des populations concernées (Wongsrichanalai, 2001).

En conclusion, les tests rapides s'avèrent au moins aussi sensibles que la microscopie pour la détection de *Plasmodium falciparum* (Arora et al. 2003). Leur utilisation est limitée 1) par leur capacité à détecter les *Plasmodiums non-falciparum*, 2) par une variabilité importante de la sensibilité des différentes marques de tests et d'un test donné dans différentes conditions, ainsi et surtout 3) par leur prix actuel. A relever aussi 4) leur caractère qualitatif qui va à l'encontre de l'approche par seuil de densité parasitaire. Notons enfin 5) que leur utilisation nécessite une compétence non négligeable, rarement atteinte par les agents de santé de base dont le budget est de toute façon trop faible pour en faire l'acquisition, ceci compensant peut-être cela ...

Devant la médiocrité du diagnostic microscopique et des tests rapides pour les basses densités parasitaires, la technique par PCR devient une alternative intéressante dans les pays développés pour une fièvre de retour de voyage grâce à sa grande sensibilité et sa spécificité ainsi que le diagnostic d'espèce possible dans la technique dite « en temps réel » (Mens et al. 2007) (Rougemont et al. 2004)

De plus, comme autre indicateur intéressant d'un accès de paludisme on peut relever que certains auteurs conseillent, devant le grand nombre de paludismes non diagnostiqués lors d'une première consultation pour une fièvre de retour de voyage (Kain et al. 1998), d'effectuer également le dénombrement des thrombocytes qui, lorsqu'ils sont abaissés au dessous de 100 000/ $\mu$ l peuvent faire suspecter un paludisme (D'Acremont et al. 2002) (Hanscheid et al. 2003). On notera cependant le caractère peu spécifique et le manque d'évaluation quantifiée de ce dernier examen.

Ainsi à la lumière des limitations nombreuses de la microscopie comme diagnostic du paludisme dans les centres de santé périphériques, il est étonnant de constater le grand nombre d'études s'accrochant au diagnostic microscopique "*malaria should be confirmed by laboratory tests. The most appropriate would be microscopical examination of a blood slide, as the results provide both malaria diagnosis and species differentiation. Luxemburger, Nosten, Kyle, Kiricharoen, Chongsuphajaisiddhi, & White 1998*". Il faut néanmoins relever que l'utilisation de la microscopie pour différencier les fièvres palustres est une attitude probablement raisonnable dans un contexte de faible endémicité. Enfin le test rapide semble être une voie prometteuse pour exclure le diagnostic, bien que son prix reste un facteur limitant dans la plupart des pays concernés.

### ***Indicateurs indirects***

De nombreux indicateurs indirects pour le diagnostic de l'infection plasmodiale ont été proposés. Leur manque de spécificité et souvent de sensibilité en ont fait des outils accessoires, principalement utilisés dans le cadre de la définition complexe de l'accès palustre.

Parmi eux, cependant, l'un mérite que l'on s'y attarde car il présente un degré de « spécificité indirecte » intéressant, en particulier dans son utilisation au niveau communautaire.

L'**haptoglobine** (Hp) est une protéine sérique de la fraction *alpha2* et dont la concentration sanguine « normale » se situe entre 50 et 250 mg/dl. Elle présente trois caractéristiques/fonctions utiles à la recherche appliquée dans le domaine du paludisme : 1) il s'agit d'une protéine polymorphe, présentant plusieurs phénotypes utiles en génétique des populations ; le phénotype

longtemps appelé Hp0 pour caractériser l'absence d'Hp détectable dans le sang périphérique s'est révélé être l'expression d'une consommation permanente de la protéine en vertu de sa propriété 2) de chélatrice de l'hémoglobine libre du plasma ; une faible quantité d'Hb libérée par une hémolyse intra vasculaire est capable de faire disparaître l'Hp en quelques heures sous forme de complexe Hb-Hp pris en charge par le système réticulo-histiocytaire ; dans les populations des zones endémiques pour le paludisme, une hémolyse légère et permanente produit un tel phénomène, chez 10 – 60% des individus de la population générale ; 3) l'Hp est enfin, à l'instar de la protéine C réactive, une protéine de l'état inflammatoire aigu, théoriquement susceptible d'atteindre des valeurs supérieures à 300 mg/dl au début d'un accès palustre ; cependant, la propriété 2) est telle qu'elle est capable d'annuler en permanence l'effet 3) si bien que seul le phénomène d'*hypo*, voire d'*anhaptoglobinémie* est pris en considération.

L'haptoglobine disparaît dès que les hématozoaires commencent à détruire les hématies dans le sang circulant. Sa valeur se rétablit quelques semaines après le traitement de l'infection palustre et reste bas chez une faible proportion des sujets, ce qui pourrait signifier que des plasmodiums persistent dans la circulation sanguine en dépit d'un traitement correctement mené. Il est à relever que la technique de mesure quantitative de l'haptoglobine est imprécise pour les faibles valeurs. La proportion d'*hypo* ou d'*anhaptoglobinémie* dans une population endémique pour le paludisme représente un indicateur intéressant. Elle est de l'ordre de 10% en saison sèche et de 30% en saison humide. En saison sèche une haptoglobine normale et/ou l'absence de parasites pourraient indiquer avec une probabilité de 90% l'absence d'infection palustre, alors qu'en saison humide l'*anhaptoglobinémie* et/ou une parasitémie détectable pourraient indiquer une infection palustre avec une probabilité de 70%.

Pour étudier la spécificité de cet indicateur, une intervention avec traitement par des antipaludiques a été réalisée pour étudier les autres causes possibles de l'*anhaptoglobinémie*. Sur les 268 sujets inclus dans l'étude, 85 avaient une *anhaptoglobinémie* avant l'intervention, 12 sujets étaient *anhaptoglobinémiques* aussi bien avant qu'après intervention et 23 sujets *anhaptoglobinémiques* après traitement. Chez les sujets avec haptoglobine normale avant et *anhaptoglobinémique* après, 3 sujets présentaient une hémoglobinopathie, 2 des anticorps anti-érythrocytaires, et 2 un déficit en G6PD. Ces pathologies ne peuvent expliquer que partiellement l'*anhaptoglobinémie*. L'autre phénomène pouvant expliquer l'*anhaptoglobinémie* en absence d'infection plasmodiale serait une activité hémolytique persistante. Sur les 10 sujets *anhaptoglobinémique* avant et après, 3 ont corrigé leur haptoglobine durant l'année qui a suivi, analyse qui n'a pu être réalisée chez les autres sujets. Seuls 2.7% des sujets traités présentent une *anhaptoglobinémie* dont l'origine n'a pas pu être déterminée et donc potentiellement d'origine génétique. La spécificité de cet indicateur serait théoriquement de 97%.

Dans les quelques études spécifiques réalisées depuis la fin des années 70, l'*hypohaptoglobinémie* est très fortement corrélée à l'anémie palustre (100%) et à l'anémie palustre probable (90%) (Bloland et al. 1999) (Rougemont et al. 1988). On retrouve aussi une haptoglobine abaissée chez 30% des enfants ayant des signes de déficits en fer, autre signe indirect mais peu spécifique de paludisme actif. De plus, la proportion de sujets *hypo* ou *anhaptoglobinémiques* dans une zone à transmission saisonnière, est aussi corrélée très fortement avec la proportion de sujets parasités, leur densité parasitaire et le niveau de pluviométrie (Bouvier et al. 1997)

En saison de basse transmission les patients fébriles avec une haptoglobine normale n'ont une HDP que dans une très petite proportion des cas. Cette donnée confirme donc l'utilité de cet indicateur pour exclure un diagnostic de paludisme (Anne-Lise Moret / Accès de fièvre et paludisme chez les enfants de 2-9 ans : une étude cas-témoin dans un dispensaire du Niger, Genève: [s.n.], 1989). Dans le même travail on constate une relation en saison humide entre le degré d'anémie et l'indice haptoglobine (proportion d'individus chez lesquels l'Hp n'est pas décelable par les méthodes

usuelles) aussi bien parmi les sujets fébriles que les sujets afébriles, relation absente en saison sèche.

## Définition de l'accès palustre simple

### Relations entre infection et maladie palustre

En zone d'endémie parmi des populations chroniquement exposées, la détection de parasites ne permet pas d'affirmer un diagnostic d'accès clinique principalement pour 3 raisons. Premièrement, comme discuté au chapitre précédent, il existe un certain nombre de limitations pour la mise en évidence des parasites, inhérentes aux différentes techniques de laboratoires ainsi qu'à la répartition du parasite entre les organes profonds et la périphérie rendant aléatoire le lien entre détection du parasite dans le sang périphérique et la charge parasitaire totale, celle-ci déterminant probablement la fréquence et la gravité des accès cliniques. Deuxièmement, la fièvre palustre et le cortège de symptômes accompagnant résultent de la réponse de l'immunité à l'éclatement d'érythrocytes parasités contenus dans le sang total. Probablement que le lien entre la fièvre palustre et la quantité de parasites totaux est plus direct que le lien avec la parasitémie périphérique (Gravenor et al. 2002)<sup>18</sup>. Mais la cinétique entre la parasitémie totale et la périphérie reste inconnue en raison de l'absence d'outils de mesure de la parasitémie totale. Dans cette perspective, la causalité de la relation entre fièvre avec forte densité parasitaire et maladie palustre reste probable (notion à mesurer) mais non prouvée. Troisièmement, lors de la stimulation répétée de l'immunité de l'hôte par le parasite, un équilibre s'installe permettant à l'hôte de tolérer en premier des parasitémies plus ou moins élevées sans développer de symptômes puis d'éviter la surinfection par d'autres clones, phénomène appelé prémuniton.

On verra dans les paragraphes suivants les éléments expliquant les difficultés rencontrées lors de la tentative de définition de l'accès palustre simple. L'expression variable d'un accès simple et le caractère peu spécifique des signes et symptômes observés, qui peuvent s'expliquer par des modifications de l'expression clinique liée à l'âge et consécutives au développement de l'immunité clinique, ainsi que la nature continue de l'accès simple avec l'accès compliqué. Nous évoquerons également les diverses raisons justifiant la recherche obstinée d'une définition précise.

Le polymorphisme des manifestations de la maladie palustre et de leurs conséquences rendent la définition de la maladie et de ses subdivisions complexe voir impossible dans une perspective déterministe. On retrouve dans les livres de médecine tropicale les manifestations suivantes de l'infection palustre : accès de paludisme simple, anémie palustre, accès compliqué dont le plus fréquent est le paludisme cérébral et le paludisme chez la femme enceinte qui représente une entité à part.

Parmi les signes et symptômes les plus fréquemment associés à un accès palustre, il faut noter la fièvre. Jusque dans les années 70-80, l'équation fièvre + parasitémie décelée dans le sang périphérique était traitée comme la quasi certitude d'avoir affaire à un accès palustre à traiter immédiatement comme tel. On constate d'ailleurs que dans un bon nombre d'articles qui emploient un diagnostic de certitude pour l'accès de paludisme clinique, cette définition est encore utilisée (Font et al. 2001) (Weber et al. 1997) (Luxemburger et al. 1998) (Chandramohan et al. 2001) et ceci dans des régions à plus ou moins forte endémie.

La fièvre est un signe/symptôme nécessaire au diagnostic d'accès paludique clinique bien qu'une proportion non négligeable de ceux-ci se manifesterait sans fièvre chez les nourrissons (Smith et al.

---

<sup>18</sup> Un modèle mathématique a tenté d'estimer la charge parasitaire totale dans le cadre bien précis d'individus sous traitement antipaludéen. Cette étude a montré un lien entre la parasitémie totale et la fièvre, alors qu'il n'existait pas entre la parasitémie périphérique. Il se pourrait qu'il y ait aussi un lien entre cette charge parasitaire totale et une constellation clinique particulière. La charge parasitaire globale pourrait donc être un meilleur reflet de l'impact clinique de la maladie chez un individu.

1995)<sup>19</sup>. La mise en évidence de la fièvre s'avère moins simple que prévu: l'histoire de fièvre est sujette à la fiabilité de la personne en charge de l'enfant ; dans les centres de santé la fièvre est mesurée de manière inconstante et la précision de la mesure est dépendante de la méthode utilisée et de la température ambiante. Par ailleurs, les causes de fièvre, symptôme fréquent chez les enfants, étant multiples et variables dans leur origine en particulier en fonction de la saison, rendent la relation entre fièvre et origine palustre peu spécifique. On ne peut par conséquent attribuer qu'une part des fièvres à une origine palustre, proportion variant principalement en fonction de la saison, du niveau d'endémicité, de l'âge du patient et de son utilisation de moyens préventifs comme la moustiquaire imprégnée. La fraction attribuable au paludisme ainsi que le nombre d'accès de paludisme au cours d'une saison est la plus élevée dans des tranches d'âges jeunes dans un contexte à forte endémie, et se déplace vers des tranches d'âge plus élevées avec une endémicité décroissante. On retrouve ces mêmes différences entre l'âge et le niveau d'endémicité dans les études sur le modèle de développement de l'immunité palustre, où l'immunité anti-maladie, ainsi que le pic de parasitémie apparaissent plus tard avec une endémicité décroissante (McGuinness et al. 1998) (Genton et al. 1994)<sup>20</sup> (Prybylski et al. 1999).

Les nombreuses autres manifestations de l'accès simple ne contribuent que de manière mineure, hormis les signes cliniques de l'anémie et la splénomégalie, au diagnostic de paludisme clinique. En effet, ces manifestations surviennent de manière inconstante et ne sont pas spécifiques de la maladie. Par ailleurs, la perception de la fièvre palustre et ses caractéristiques varient selon les cultures, notamment le caractère intermittent de la fièvre et les symptômes accompagnant le pic de fièvre, et le relevé des signes cliniques par exemple la pâleur palmaire et conjonctivale nécessite des compétences cliniques et sont peu sensibles lors d'atteinte modérée, en d'autres termes il n'existe pas de signe pathognomonique de l'accès de paludisme.

Enfin le développement de l'immunité clinique puis parasitaire modifie la relation entre la densité parasitaire et l'expression clinique ainsi que l'intensité et la fréquence de survenue des manifestations cliniques (Smith et al. 1995), et la rapidité de ces changements est dépendante du niveau d'endémicité (Prybylski et al. 1999). Par conséquent, l'âge et le niveau d'endémicité sont des déterminants majeurs de la probabilité d'attribution de l'origine palustre à une fièvre.

Sur le plan biologique, qui pourrait être une voie plus déterministe, l'origine plasmodiale d'une manifestation quelconque attribuable, étique table ou qualifiable en tant que crise palustre simple n'existe probablement pas et seul l'évolution d'un complexe symptomatique vers un accès pernicieux typique peut à posteriori nous apporter la preuve de la relation causale entre les symptômes et leur origine présumée et l'infection plasmodiale. La conséquence de cette incapacité à porter à priori un diagnostic de certitude sur l'origine palustre d'un complexe symptomatique reste une incertitude profonde quant à l'attitude thérapeutique à adopter face au complexe en question.

---

<sup>19</sup> On peut relever dans cette étude la démarche particulière pour définir le cas d'accès palustre partant de l'impression des parents que leur enfant est malade appuyé d'éléments objectifs tels que la CRP (Smith et al.).

<sup>20</sup> Dans l'étude de Smith sur la relation entre l'infection palustre et la morbidité, la fraction attribuable varie selon le groupe d'âge entre 0.195 et 0.519 avec un maximum dans la tranche d'âge des 5-9 ans, et le nombre d'épisodes de fièvre attribuable au paludisme montre un maximum dans la tranche d'âge des 2-4 ans avec 1.96 épisode/année. Dans l'étude de Mc Guinness chez des enfants en-dessous de 2 ans, sur la côte sud du Ghana, dans une région avec un EIR de 8.5 piqûre infectante par personne par année, avec une transmission pérenne et un pic après la saison des pluies, la fraction attribuable des fièvres au paludisme est de 88.8% et 35.9% pour les enfants >12 mois en saison humide et en saison sèche respectivement, alors que pour les enfants <12 mois elle se situe à 51% et 22.1% respectivement. A l'encontre dans l'étude de Prybylski, au Pakistan dans une région à endémie moindre parmi une population consultante, la fraction attribuable au paludisme pour une température > 38°C est de 0.193, et elle est maximale dans la tranche d'âge des 4 à 12 ans.

La nécessité de traiter en présence d'une fièvre avec une goutte épaisse positive en zone d'endémie n'est plus valable dès lors que l'objectif visé est la réduction de la morbidité et de la mortalité et non plus l'éradication du parasite.

Par contre dans les régions hypo endémiques, la proportion de porteurs asymptomatiques est présente dans une moindre mesure<sup>21</sup> et le diagnostic de paludisme maladie peut se reposer avec plus ou moins de certitude en présence d'une fièvre et un examen parasitologique positif. Néanmoins, les différentes méthodes comportent toutes un seuil de détection qui a été estimé à 50 p/μl (Kilian et al. 2000) et donc la sensibilité est à 5 p/μl selon l'OMS influant sur la sensibilité. Cette constatation est confirmée par les techniques PCR d'une sensibilité environ 10 x plus grande, la détection de parasites peut donc être considérée comme étant un seuil de densité parasitaire. De plus en pratique on constate également dans les régions à bas niveau de transmission, que la détection de parasite en présence de fièvre n'est pas un bon prédicteur de fièvre (Boisier et al. 2002)<sup>22</sup>.

Donc la probabilité de causalité entre fièvre et infection palustre est dépendante du niveau d'endémie. Dans un milieu où les 100% de la population seraient infectés, l'infection palustre n'a plus de relation avec la fièvre, alors que dans une zone non-impaludée la probabilité de causalité entre l'infection et une fièvre est théoriquement de 1. Il resterait à déterminer quelle relation il y aurait entre l'infection et la probabilité d'attribution d'une fièvre à une origine palustre avec des indices plasmodiques intermédiaires, en d'autres termes : quelle forme a la fonction de l'infection palustre dans une population et la probabilité de causalité palustre entre cette infection et une fièvre. Cette fonction prend toute son importance lorsqu'il s'agit de déterminer dans quelles zones d'endémie la détection du parasite est utile et dans laquelle son efficacité est insuffisante (voir Annexe 1).

D'une part, sur un plan uniquement fonctionnel, il faudrait pouvoir de doter la personne chargée d'un centre de santé ou à un autre niveau de santé infantile et maternelle dans une communauté d'une aide à la décision face à une fièvre inexpliquée, maladie fréquente dont certaines sont dues aux parasites et dont certaines peuvent évoluer vers une issue fatale rapidement pour la forme cérébrale ou moins rapidement pour la forme anémique. D'autre part, l'accès paludique simple représentant une partie de la morbidité devrait pouvoir être circonscrit le plus précisément possible pour servir d'indicateur dans l'évaluation de l'efficacité d'interventions de types moustiquaires imprégnées ou vaccinales ou traitements prophylactiques.

---

<sup>21</sup> La proportion de porteurs asymptomatiques est variable. Chez Boisier au Madagascar dans une région à transmission basse (EIR de 3.8 b/h/n) la proportion d'asymptomatiques est de 9.5% avec une tendance à la baisse parmi les patients plus âgés. Chez Chandromohan la proportion durant la saison des pluies se situe à 2.2% parmi une population rurale en Inde dans une région à basse transmission.

Dans l'étude de Prybilski qui se déroule au Pakistan, parmi la population de personnes parasitémiées, 55% ont eu une histoire de fièvre durant les 2 semaines précédentes et 20% ont une fièvre mesurée.

<sup>22</sup> A Madagascar, dans une région à transmission saisonnière avec 2 pics de transmission et des saisons sèches avec une très basse transmission la relation de la fièvre axillaire dépassant 37.5 °C, la parasitémie, l'âge et la saison a été étudiée de manière longitudinale par des visites bi-mensuelles à un niveau communautaire.

Pour des parasitémies entre 1 et 499 et pour des parasitémies entre 500 et 4999, l'odds ratio de la fièvre était respectivement de 0.6 et de 1.8. Dans cette population le portage asymptomatique est de 9.5%. Il faut relever néanmoins que l'analyse de la relation entre fièvre et parasitologie n'a pas été faite par saison, et que d'autre part l'histoire de fièvre n'a pas été investiguée ce qui en zone peu endémique aurait été intéressant. Par ailleurs, cette étude a également montré une relation claire entre la parasitémie et le risque de fièvre, et que cette relation est dépendante de l'âge et la saison. Enfin, on peut également souligner les conclusions des auteurs, qui proposeraient une attitude probabiliste de l'approche du diagnostic et du traitement de la fièvre palustre.

## La fièvre et histoire de fièvre

La fièvre palustre résulte de l'éclatement des hématies parasitées, libérant les débris de parasites stimulant les macrophages et les lymphocytes à la production d'une cascade inflammatoire dont le TNF, IL6 qui ont un effet pyrogène. On peut donc imaginer selon ce modèle physiopathologique que l'éclatement de ces parasites pourrait être mis en lien avec la parasitémie totale, comme semble le montrer un modèle mathématique simulant le phénomène de séquestration-relargage (Gravenor et al. 2002), et par conséquent son lien avec la parasitémie périphérique serait inconstante et le caractère de la fièvre serait cyclique.

L'hyperthermie est un signe reconnu comme une des manifestations principales d'un accès palustre. Toutefois chez les nourrissons<sup>23</sup> ainsi que chez les enfants plus âgés entre 5 et 9 ans elle n'est pas toujours présente en cas d'accès palustre (Rogier et al. 2001)<sup>24</sup>. Le seuil de densité parasitaire choisi pour définir un accès palustre n'est pas évident en raison de la variation physiologique considérable de la température corporelle dans le courant de la journée présentant un minimum le matin et un maximum l'après-midi avec une différence de plus de 1 degré Celsius. Celle-ci est dépendante de la température ambiante, élément qui devrait être pris en considération lors de la définition d'un état fébrile (Alonso et al. 1994). Ainsi compte tenu des variations importantes de la température physiologique durant la journée ainsi que l'incertitude liée à la mesure, un seuil de 37°C pour la prise en compte de la température est très bas (Chandramohan et al. 2001).

Le lien entre l'intensité de la fièvre mesurée et la présence de parasites ainsi que la parasitémie est bien établie dans un bon nombre d'études de détection passive évaluant des algorithmes cliniques<sup>25</sup> (Fasan, 1969); (Genton et al. 1994, Olaleye et al. 1998, Rougemont et al. 1991, Weber et al. 1997)<sup>26</sup>(Rogier et al. 1996)<sup>27</sup>(Smith et al. 1995)<sup>28</sup>. Il est un critère simplement mesurable, objectif et donc un facteur qui n'est probablement pas variable selon les régions étudiées. Cette relation n'est pas retrouvée dans toutes les études (Salako et al. 1990), notamment pas dans des études communautaires, confirmant les différences importantes existant du spectre du paludisme clinique détecté dans des études communautaires et des études de détection passive qui font appel à la nécessité des parents de consulter (Cox et al. 1994)<sup>29</sup>.

---

<sup>23</sup> Une étude montre que plus de la moitié de la morbidité attribuable au paludisme dans une région d'endémie chez les nourrissons se présenterait sans fièvre (Smith et al. 1995).

<sup>24</sup> Dans la catégorie d'âge des 10 ans et plus, la fièvre mesurée dépassant 38°C n'était présente que dans 78.6% des cas.

<sup>25</sup> Rougemont montre que l'*odds ratio* pour une goutte épaisse positive chez les patients ayant une fièvre comparé aux patients n'ayant pas de fièvre augmente de manière conséquente selon le seuil de fièvre choisi de 38°C buccal à 39°C. Weber montre que l'*odds ratio* de la fièvre pour une goutte épaisse positive et pour un diagnostic de paludisme augmente avec chaque degré de température.

<sup>26</sup> Chez Genton le meilleur prédicteur d'une parasitémie >10 000 p/ $\mu$ l est une fièvre >38°C, association uniquement valable chez les enfants < 10 ans.

<sup>27</sup> Chez Rogier, lors de la prise en compte d'un seuil de température axillaire > 38°C le risque relatif de fièvre augmente de manière importante avec la densité parasitaire.

<sup>28</sup> Chez Smith la fraction attribuable au paludisme s'élève avec le seuil de température choisi parmi la population entre 1 et 9 ans au contraire de la tranche d'âge en dessous de 1 an où la distribution de la température est la même chez les malades attribuables au paludisme et les malades d'autre origine. Dans la tranche d'âge 5 à 9 ans, une proportion importante des malades attribuables au paludisme présente une température normale, ce qui pourrait être le résultat du développement de l'immunité clinique qui est également accompagnée d'une réduction de la prévalence de paludisme clinique dans cette tranche d'âge.

<sup>29</sup> Dans cette étude la proportion des enfants rapportant une histoire de fièvre durant le suivi communautaire répartis selon des groupes de densités parasitaires ne change pas si l'on prend en compte la température élevée mesurée lors du suivi communautaire, ce qui indique que dans cette étude la température rapportée par les parents est un meilleur indicateur pour prédire une parasitémie élevée que la fièvre mesurée au niveau communautaire. Par contre dans la même étude, durant le suivi réalisé au centre de santé, une relation significative entre la parasitémie et la fièvre mesurée est retrouvée parmi les enfants consultant pour une histoire de fièvre.

L'objectif est donc de mesurer la force de l'association entre des signes et symptômes et la présence des parasites ainsi que d'observer pour les variables continues s'il y a une relation de « dose-réponse », et non de mettre en relation les signes et symptômes avec l'infection palustre.

La proportion de sujets parasitémiés chez les patients présentant une fièvre mesurée est plus importante que ceux avec histoire de fièvre. L'absence de fièvre anamnétique prédit correctement l'absence de fièvre mais pas inversement<sup>30</sup>. La question est de savoir si ce fait s'explique par le caractère erratique de la fièvre palustre comme une étude d'algorithme intégrant la notion de fièvre intermittente semble le montrer (Rooth and Bjorkman et al. 1992) ou par une fausse impression d'avoir de la fièvre ou encore par l'évolution naturelle favorable d'une proportion importante des fièvres palustres<sup>31</sup> (Rogier et al. 1996). Donc inclure toutes les histoires de fièvres des 3 derniers jours dans la définition de cas d'accès palustre augmente la sensibilité mais diminue la spécificité du diagnostic, ce qui est confirmé par une étude au Ghana mesurant la fraction attribuable des fièvres (McGuinness et al. 1998)<sup>32</sup>. Dans une région hypo-endémique l'histoire de fièvre ne montrait une sensibilité que de 39.2% et une spécificité de 56% dans sa capacité à prédire la présence de parasites (Lindblade et al. 2001). Dans une autre étude on conclut que l'histoire de fièvre est un meilleur indicateur que la fièvre mesurée car le nombre de cas de paludisme qui ont une fièvre mesurée dans le collectif étudié n'est que de 25%. Mais le diagnostic de paludisme utilisé dans cette étude est défini comme une fièvre ou une histoire de fièvre en présence d'une parasitémie détectable à la goutte épaisse (Muhe et al. 1999). **A nouveau la présence de parasites ne peut être considérée comme une définition du paludisme, elle indique seulement la présence d'une infection plasmodiale.**

Une attitude intéressante du fait qu'elle inverse la question posée par la plupart des auteurs (qui se demandent quelle densité parasitaire prédit la nature palustre de la fièvre) est celle développée par Redd qui consiste à définir le seuil de fièvre selon sa capacité de discrimination de la présence de parasite. L'auteur arrive à une valeur de température rectale supérieure à 37.7°C et une température axillaire de 37.4°C. Dans cette même étude on peut relever qu'en pratique, dans un cas de suspicion de paludisme, la fièvre n'est en général mesurée que dans une faible proportion des cas.<sup>33</sup>

#### *Exclusion des fièvres d'autre origine*

Sur les études citées il n'y en a que 6 qui prennent en considération les fièvres d'autre origine (Bojang et al. 2000, Muhe et al. 1999, Olaleye et al. 1998, Rooth and Bjorkman 1992, Rougemont et al. 1991, Weber et al. 1997). La définition des cas d'accès palustres dans les autres études perd en spécificité, puisqu'un certain nombre de fièvres considérées comme palustres est en fait d'autre origine. Leur but est de se mettre dans la situation réelle où l'absence de médecin, voir d'infirmier

---

<sup>30</sup> Chez des écoliers de 5 à 15 ans la sensation de fièvre s'est révélée être sensible mais avait une spécificité de 54.4 % en comparaison avec une fièvre mesurée (Magnussen et al. 2001). Dans une autre étude évaluant la sensation de fièvre comme prédicteur de la présence de fièvre mesurée on retrouve chez les moins de 1 ans une sensibilité de 90% et une spécificité de 44%, chez les 1 à 5 ans, une sensibilité de 93.5% et une spécificité de 47.3%, chez les 5 à 15 ans une sensibilité de 86% et une spécificité de 54%, et chez les plus de 15 ans une sensibilité de 74% et une spécificité de 45%. Il faut néanmoins relever que cette étude a inclus tous les patients consultant au centre de santé et non ceux consultant pour de la fièvre (Einterz). D'autres auteurs retrouvent la même sensibilité mais une meilleure spécificité (0.8) dans une région à transmission saisonnière au Kenya, dans une étude communautaire où les mères d'enfants âgés de 2 mois et demi à 37 mois ont reçu un apprentissage pour reconnaître la fièvre (Poul-Erik).

<sup>31</sup> Au cours d'une étude longitudinale étudiant l'accès de paludisme dans 25% des cas de paludisme chez les moins de 2 ans la fièvre avait disparu quelques heures avant l'instauration du traitement.

<sup>32</sup> Parmi des enfants >2 ans, une définition comprenant l'histoire de fièvre rapportée par les mères ou mesurée et une autre par la fièvre >37.5°C diagnostiquait 2x plus de cas et les fractions attribuables au paludisme étaient plus basses, mais présentaient les mêmes variations selon les classes d'âges.

<sup>33</sup> Sur 655 patients consultant pour une histoire de fièvre ou rapportant une fièvre mesurée >37.5°C, seul 329 ont eu la température mesurée durant la consultation.

est la règle, donc dans un milieu où l'exclusion des fièvres d'autre origine est peu fiable. Néanmoins il faut s'assurer que l'objectif de ces études est de pallier en périphérie au manque de microscopie, objectif poursuivi par la plupart des études et qui donc présuppose que le diagnostic parasitologique peut être considéré comme un gold standard. Toutefois on doit prendre en compte les failles de la microscopie énumérées au chapitre précédent, ce que fait un grand nombre de chercheurs dans l'introduction sans pour autant en tirer les conséquences, ainsi que les liens complexes existants entre l'infection et la maladie palustre. Partant de cet état de fait, la démarche se complique puisque le gold standard n'existe pas. Le point de départ central pour l'élaboration d'un algorithme doit être la fièvre d'origine indéterminée définie le plus justement possible par la personne la plus expérimentée. De cette manière, les fièvres qui ont moins de chances d'être d'origine palustre ne seront pas classées parmi les cas et n'affaibliront pas les liens possibles entre les manifestations cliniques et l'infection palustre. Il s'agit donc de s'entourer des conditions expérimentales idéales pour doter d'un outil clinique simple le travailleur de santé afin de pouvoir décider devant un état fébrile du type de traitement à administrer. L'objectif est en premier lieu de pouvoir relier des signes et des symptômes à une origine palustre. Dans un deuxième temps, un tel algorithme devra être évalué sur le terrain de la même manière que le IMCI a dû faire l'objet d'évaluations pour les travailleurs de santé, ce qui d'ailleurs a été l'objectif d'une des études prises en compte (Bojang et al. 2000).

Lorsque l'étude est menée par un médecin expérimenté, la proportion de fièvre d'origine indéterminée varie parmi les sujets fébriles entre 50 et 90% en saison humide et entre 17 et 15% en saison sèche selon le seuil de fièvre choisi  $> 37.5^{\circ}$  pour la première valeur et  $> 39^{\circ}$  pour la deuxième valeur. La différence des fièvres d'origine indéterminées entre la saison humide et la saison sèche est due à l'incidence plus importante de paludisme en saison humide et d'infections respiratoires en saison sèche (Anne-Lise Moret / Accès de fièvre et paludisme chez les enfants de 2-9 ans : une étude cas-témoin dans un dispensaire du Niger, Genève: [s.n.], 1989)<sup>34 35</sup>. Dans cette étude, la relation entre la proportion de fièvres d'origine indéterminée, le seuil de la fièvre et la densité parasitaire nous indique qu'une grande part de ces fièvres n'est pas attribuable au paludisme en saison sèche. En effet, la proportion de fièvres d'origine indéterminée n'augmente pas avec un seuil de fièvre plus élevé en saison sèche et la proportion de hautes densités parasitaires est augmenté mais reste bas. A l'inverse, en saison humide, la proportion de hautes densités parasitaires parmi les fièvres d'origine indéterminée augmente et ce d'autant plus chez les sujets présentant une forte fièvre.

En résumé, le processus d'élaboration d'un algorithme doit créer les conditions idéales pour circonscrire le plus justement des fièvres d'origine palustre, afin de pouvoir valider l'origine palustre d'éléments cliniques simples, qui pourront dans un deuxième temps être utilisés et évalués par des agents de santé. Donc il est nécessaire que l'étape d'élaboration d'un algorithme soit réalisée dans le cadre d'études réalisées par des professionnels capables d'exclure les fièvres d'origine connues.

Toutefois, dans le travail de Moret (Anne-Lise Moret / Accès de fièvre et paludisme chez les enfants de 2-9 ans : une étude cas-témoin dans un dispensaire du Niger, Genève: [s.n.], 1989), on peut relever que la comparaison entre l'analyse statistique des fièvres de toutes origines et des

---

<sup>34</sup> L'étude a été menée au Niger parmi des enfants entre 2 et 9 ans, en zone hyper-endémique à transmission per-annuelle avec recrudescence saisonnière, avec une saison des pluies de mai à septembre avec une pointe en août, au total 311 mm d'eau et une saison sèche sans précipitations, dans l'hôpital de Galmi qui a un double rôle d'hôpital de référence pour la région et de dispensaire rural officiel pour 17 villages alentours.

<sup>35</sup> Trape 1985 TRSTMH dans une autre étude sur 204 patients fébriles au Congo de toute classe d'âge, 94 avaient une origine déterminée dont 30 un diagnostic de bronchite ou pneumonie, 37 une infection ORL, 14 otites, 23 une rhinopharyngite et angine et 26 des infections diverses.

fièvres d'origine indéterminées ne montre pas de différences significatives dans leur lien aux différents indicateurs du paludisme.

### **Approche par seuil de densité parasitaire**

Par la suite d'autres modèles ont été proposés pour définir le paludisme clinique. Partant de l'observation que, pour une densité parasitaire donnée, l'âge influence le risque de fièvre, certains auteurs ont tenté de définir un accès clinique par la présence de fièvre et un seuil de densité parasitaire dépendant de l'âge (Rogier et al. 1996). L'apparition de l'immunité anti-toxique implique que le seuil pyrogène s'élève après les premiers accès cliniques d'autant plus rapidement que le niveau de transmission est élevé chez les jeunes enfants alors que le seuil diminue avec l'âge au cours du développement de la tolérance physiologique. La définition de seuils de densité parasitaire dépendants ou non de l'âge permet probablement une meilleure approximation de la proportion de paludisme clinique. Mais ils sont dépendants du niveau d'endémie et probablement très variables de région en région. Ils ne peuvent être appliqués que dans une population homogène quant à l'exposition à la transmission ce qui limite leur utilisation à la recherche. La tentative de rechercher des seuils de densité parasitaire selon la méthode de Rogier a été infructueuse dans une zone de basse transmission avec 3.8 piqûres infectante par personne et par nuit qui pourrait être due à l'hétérogénéité inter-individuelle plus importante dans le niveau de développement de l'immunité (Boisier et al. 2002).

Chaque étude a ainsi défini un certain seuil qui varie principalement selon le niveau d'endémie : Marsh 1989 (1000 p/μl) et Greenwood 1989 en Gambie (5000 p/μl), Trape 1985 (5000 p/μl) au Congo, Luxemburger 1998 1500 p/μl pour *Plasmodium falciparum* et 200 p/μl pour *Plasmodium vivax*, Olivar 1991 au Niger, 10 000 p/μl, Bonnet 2002 utilisation de 2 définitions avec une limite à 1000 p/μl et une autre dépendante de l'âge d'après Rogier en 1996.

L'approche définissant l'accès palustre à l'aide d'un seuil de densité parasitaire se heurte à plusieurs limitations.

#### *Définition arbitraire*

Même si on admet que le risque de paludisme augmente avec la densité parasitaire, le risque de développer une fièvre augmente avec la densité parasitaire de manière continue, la détermination d'un seuil reste donc arbitraire (Rogers et al. 2006), contrairement à ce qu'il avait été prétendu par le passé (Rogier et al. 1996)<sup>36</sup>.

#### *Proportion de hautes densités parasitaires asymptomatiques*

Dans les régions à forte endémicité, on retrouve une proportion de personnes asymptomatiques porteuses de hautes densités parasitaires (Trape et al. 1985)<sup>37</sup>. On peut donc admettre que le risque de fièvre augmente avec la densité parasitaire, mais que la proportion de porteurs de hautes densités parasitaires reste conséquente parmi la population d'enfants asymptomatiques<sup>38</sup>.

---

<sup>36</sup> Soutenant l'hypothèse que l'accès de paludisme est un accident immunologique ou parasitologique plutôt qu'à une incapacité de l'organisme à contrôler la parasitémie ou à réguler sa réponse immunitaire

<sup>37</sup> Chez Cox parmi la population afebrile 11.8% présentent une densité parasitaire >5000 p/μl et 35% une parasitémie >1000 p/μl. A noter que ces derniers sont surtout des enfants entre 2 et 5 ans. Chez Salako au Nigeria parmi la population asymptomatique 20% avaient une parasitémie >10 000 p/μl.

<sup>38</sup> Le risque relatif de fièvre pour une densité parasitaire >10 000 p/μl est de 2.2 dans l'étude de Baudon, de 5.1 pour une densité parasitaire comprise entre 10 000 et 24 999 chez Rougemont et Moret au Niger, de 7.62 chez Genton.

Des études comparant la densité parasitaire dans une population d'enfants atteints de paludisme cérébral et dans une population témoin montre des parasitémies basses aussi bien dans le groupe paludisme cérébral que des parasitémies très élevées dans le groupe témoin (Phillips and Solomon 1990). D'autres études, hospitalières, à la recherche de prédicteurs de gravité lors de paludisme cérébral montrent toutefois qu'une haute densité parasitaire est un bon prédicteur de gravité de la maladie (Esamai et al. 1999).

La définition du paludisme clinique par la prise en compte d'un seuil est donc plus satisfaisante que celle prenant en compte la présence de parasites détectables, mais reste aléatoire de par sa nature probabiliste.

### *La densité parasitaire ne prédit pas une fièvre palustre*

Il n'est pas démontré qu'une haute densité parasitaire chez un sujet donné prédise le développement d'une fièvre palustre. L'incidence cumulée de fièvre pour des densités parasitaires  $>15\ 000\ \text{p}/\mu\text{l}$  durant un suivi de 9 jours ne dépasse pas 20% (Delley, Véronique. Approche épidémiologique du paludisme en zone d'endémie. - Genève : [s.n.], 1998. - 107 f. : ill. ; 30 cm. Th. biol. Genève, 1998 ; Sc. 2995) Certains auteurs critiquent ces observations en avançant le manque de données sur les manifestations autres que la fièvre, comme l'histoire de fièvre, les frissons, la transpiration.

Cette affirmation est confirmée par les résultats d'une étude épidémiologique tentant de déterminer la morbidité à l'aide d'un modèle de régression logistique, ainsi qu'une étude sur la densité parasitaire et le risque de fièvre (Boisier et al. 2002, Smith et al. 1994). Les auteurs estiment que la présence d'une fièvre  $> 38^{\circ}\text{C}$  et d'une parasitémie  $>5000\ \text{p}/\text{mm}^3$  présente une sensibilité et une spécificité de 80% pour un accès de paludisme, la valeur d'un tel seuil au niveau individuel ne peut donc dépasser ces valeurs populationnelles.

De manière parabolique, on pourrait comparer la parasitémie au niveau d'essence dans le réservoir d'une voiture en train de rouler avec la détection sur une lame d'une certaine densité parasitaire au voyant lumineux indiquant un niveau d'essence trop bas. La voiture monte, descend, remue, mouvements qui se transmettent au contenu du réservoir et allument de manière intermittente le voyant. Si celui-ci vient à s'allumer, cela signifie que la probabilité d'un bas niveau d'essence est forte, mais pas assurée. En effet si par exemple la voiture est en montée le voyant lumineux s'allume de manière erronée au même titre que si la voiture roule sur terrain accidenté produisant des vagues dans le réservoir. De la même manière lors d'un suivi longitudinal de jeunes adultes avec 3 prises de sang par jour, on constate qu'il y a association entre parasitémie et fièvre mais leur cinétique ne sont pas semblables rendant leur corrélation non significative lorsque leur présence est observée simultanément (Delley et al. 2000).

De plus, comme déjà évoqué dans le chapitre sur le développement de l'immunité palustre, la parasitémie, ainsi que son lien à la fièvre dépend fortement de l'âge. Chez Petersen 1991 au Liberia dans une région avec un EIR de 0.5 à 0.02 en saison humide et sèche respectivement, chez des enfants au-dessus de 5 ans, une fièvre entre  $38$  et  $38.4^{\circ}\text{C}$  ne prédit pas une haute densité parasitaire, alors qu'elle est associée chez les moins de 5 ans à une température moyenne de  $37.5^{\circ}\text{C}$  et plus pour des parasitémies supérieures à  $5000\ \text{p}/\mu\text{l}$ , alors que jusqu'à l'âge de 25 ans des parasitémies dépassant  $10\ 000\ \text{p}/\mu\text{l}$  sont associées à des températures dépassant  $38.5^{\circ}\text{C}$

<sup>39</sup>.

---

<sup>39</sup> Il est intéressant de constater que dans cette étude l'auteur part de la parasitémie pour mesurer une proportion de cas fébriles et non de la proportion de cas fébriles pour observer la proportion de cas fébriles avec parasitémie ou haute

En résumé, la présence d'une haute densité parasitaire est associée à un risque plus élevé de fièvre potentiellement palustre ou à un certain risque de développer une maladie palustre. Elle doit donc être prise en compte comme un facteur parmi d'autres dans l'évaluation d'un accès de paludisme clinique et ne peut être pris comme seul critère diagnostique.

## Evaluation de l'endémicité

Le tribut payé au paludisme dans une région donnée peut être défini par le niveau d'endémie. On l'a longtemps évalué à l'aide d'une formule comprenant la mesure, dans la population, de l'indice plasmodique<sup>40</sup>, la moyenne géométrique de la densité parasitaire et l'indice splénique<sup>41</sup> (selon la conférence de Kampala 1950, OMS 1951). L'indice gamétocytaire ou pourcentage des porteurs de gamétocytes a également, dans le passé, été utilisé chez les enfants de 2 à 9 ans comme mesure de l'endémicité (Metselaar & Van Thiel 1959).

Néanmoins, l'indice plasmodique mesuré chez les enfants plus âgés est un indicateur grossier pour estimer l'endémicité en raison de la longévité des infections à *Plasmodium falciparum* et des surinfections. Restreindre cette mesure à des nourrissons qui ne sont plus sous la protection des anticorps maternels permet une meilleure estimation de l'incidence des infections palustres (Snow et al. 1997). On calcule ainsi un indice appelé « *force of infection* » par la proportion d'individus dans une tranche d'âge déterminée qui ont été exposés au parasite, ceci par un examen hématologique ou par un test sérologique par ELISA des IgM totaux.

Constatant l'imperfection de ces moyens de mesure, d'autres indicateurs sont utilisés pour quantifier l'impact du paludisme dans une population. Ainsi on définit la *force de transmission* en mesurant le taux d'inoculation qui correspond au nombre de piqûres infectantes que reçoit un sujet par unité de temps. Bien que le lien entre l'EIR<sup>42</sup>, la morbidité et la mortalité reste à préciser, cet indicateur donne une bonne approximation du risque infectieux parasitaire dans une région donnée.

On constate aussi que plus l'EIR augmente, plus le rapport anémie palustre / paludisme cérébral augmente, de même qu'avec un EIR plus bas le nombre de décès attribuables au paludisme cérébral augmente et avec lui la mortalité directe. Enfin, avec un EIR croissant la répartition saisonnière devient plus importante. L'explication des changements d'incidence et des tranches d'âges atteintes

---

parasitémie, comparé aux cas non fébriles. Dans la même étude on trouve un groupe d'enfant de 6 mois et 1 ans, non fébriles avec une haute densité parasitaire.

<sup>40</sup> Une classification de l'endémicité a été proposée selon l'indice plasmodique qui est le pourcentage des sujets examinés présentant des parasites dans le sang :

- zone hypo-endémiques, indice plasmodique < 10 %
- zone méso-endémique, indice plasmodique 11 à 50%
- zone hyper-endémique, indice plasmodique 50- 75%
- zone holo-endémique, chez les nourrissons indice plasmodique > 75%.

<sup>41</sup> L'indice splénique qui est le pourcentage d'enfants porteurs de splénomégalie, avec la mesure de la proportion de sujets entre 2 et 9 ans présentant une rate élargie :

- paludisme hypo-endémique, indice splénique inférieur à 10 %
- paludisme méso-endémique, indice splénique entre 11 et 50 %
- paludisme hyper-endémique, indice splénique constamment supérieur à 50 %, indice splénique également élevé chez les adultes,
- paludisme holo-endémique, indice splénique constamment supérieur à 75 %, indice splénique faible chez les adultes.

Définition : Endémicité stable/instable, stable : bas indice plasmodique <20%, modéré 20 à 69%, haute > 70% (Snow, Lancet 1998).

<sup>42</sup> **EIR** = Entomological Inoculation Rate =  $mas$ , where  $ma$  = number of mosquito bites per night and  $s$  = proportion of those bites positive for sporozoites

par les différentes manifestations du paludisme lors d'un changement de la force de transmission restent hypothétiques<sup>43</sup>.

La mesure de la mortalité à différents niveaux de transmission permet une estimation de l'impact d'un programme visant à diminuer l'EIR. Néanmoins l'intervention qui diminue l'EIR fait chuter la mortalité dans l'immédiat, mais l'immunité de la population étudiée ne se modifiera que progressivement, soulevant la question du temps de latence nécessaire pour l'évaluation d'un programme d'intervention.

Les études considérant les paramètres météorologiques nécessaires à la survie du parasite et du moustique, vecteur de la maladie, à savoir: le régime des précipitations, des températures et de l'humidité durant l'année, représentent une autre manière d'approcher les niveaux d'endémie. A la base, à partir des quantités de précipitations et des températures, ici minimales, un index de « souhaitabilité » est défini de 0 à 1, le 0 représentant une région où la transmission est nulle, le 1 les conditions idéales pour une forte transmission. Ainsi la limite entre les zones de transmission instable et les zones stables a été placée arbitrairement à 0.2. A partir de ces différentes zones de transmission, une revue de la littérature est réalisée afin de faire une estimation de la mortalité et morbidité. On constate avec l'étude du système géographique, dans quelle mesure le phénomène croissant d'urbanisation montre un effet protecteur net. En effet, l'intensité de transmission prédite par le système géographique n'est de loin pas atteinte en milieu urbain, et ceci modifiera de manière croissante l'évolution de la maladie.

Avec l'avènement de la biologie moléculaire, un indicateur du niveau d'endémie qui semble intéressant est la relation entre l'âge et le nombre de clones évalué par la multiplicité de la protéine de surface MSP-2. La multiplicité des infections augmente avec le niveau d'endémie. Néanmoins la relation entre la multiplicité des clones et l'EIR n'est pas directement proportionnelle. En effet l'augmentation de l'EIR mène à une augmentation progressivement moindre de la multiplicité des parasites (Owusu-Agyei et al. 2002).

### **Estimation de la morbidité et de la mortalité palustre**

L'évaluation de la mortalité et de la morbidité palustre a des implications pratiques évidentes. Elle permet d'abord d'évaluer toute intervention visant à lutter contre la maladie. Ensuite, compte tenu de l'évolution de la présentation de la maladie et des risques vitaux au cours de la vie, elle permet de déterminer quelles sont les tranches d'âges les plus touchées et qui influencent les programmes de lutte ciblés sur les populations à risque.

L'estimation exacte de la morbidité et mortalité palustres est entravée par plusieurs difficultés incontournables. Premièrement et comme amplement discuté dans les chapitres précédant, les définitions des syndromes que développent les personnes infectées par le parasite sont

---

<sup>43</sup> Une explication pour la survenue plus tardive du paludisme cérébral serait qu'en zone de forte transmission, la proportion des plus jeunes atteints de paludisme cérébral est due à une encéphalopathie métabolique avec acidose. Malgré cela, les comas non-acidosiques et sans détresse respiratoire surviennent également à un âge plus avancé dans les zones à plus forte transmission. Une autre manière d'expliquer ces différences, est d'imaginer que le paludisme cérébral est causé par des souches différentes plus rares et donc de survenue plus tardive, ou encore que le développement du paludisme cérébral nécessite un certain développement physiologique, au niveau des récepteurs cellulaires du cerveau.

controversées en raison du manque de critères cliniques et para-cliniques sensibles et spécifiques. Deuxièmement, la quasi omniprésence du parasite dans la population vivant dans les zones à forte transmission fait que le parasite influence l'hôte même s'il reste cliniquement silencieux, autrement dit l'éradication du parasite influence également le cours d'autres maladies. Troisièmement, parmi les enfants atteints d'un accès palustre simple, selon les régions, entre 20 et 90 % des épisodes fébriles sont traités par un antipaludique dont seul 8 à 25 % dans un centre de santé, soulevant le problème des différences importantes dans l'estimation de la morbidité lors de détection passive ou active des accès de paludisme, et celle du niveau, communautaire vs hospitalier dans lequel est effectué l'étude de prévalence <sup>44</sup>. Enfin, un nombre important de nourrissons et enfants décédés ne sont pas répertoriés.

On désigne par *mortalité directe*, les cas de décès pour lesquels l'infection palustre semble une cause nécessaire et suffisante et par *mortalité indirecte* ceux où le parasite est une condition nécessaire mais non-suffisante, donc lorsque le décès semble être survenu par le concours de l'infection palustre et d'une autre maladie. En raison de ces difficultés, plusieurs moyens de mesurer la mortalité ont été développés. Pour la mortalité directe, on dispose du registre de décès, des relevés de mortalité des hôpitaux, et des « autopsies verbales ». Ces approches souffrent en premier lieu de l'absence des outils suggérés dans la plupart des régions concernées, en second lieu du manque de précision dans la définition des cas et du flou dans la détermination du dénominateur.

Pour la mortalité directe et indirecte, une approche intéressante consiste à étudier les résultats de programmes visant l'interruption de la transmission du parasite à l'aide d'insecticide ou de moustiquaires imprégnées, ou des études de chimio-prophylaxie. Néanmoins, la durée limitée de l'évaluation ne permet pas la mesure des effets à long terme de ces interventions, et les variations d'année en année dans la mortalité dues à d'autres maladies peuvent également modifier les résultats.

Une revue de la littérature (Murphy & Breman 2001) s'est donnée pour mission d'étudier la morbidité<sup>45</sup> et la mortalité spécifique<sup>46</sup> à chaque manifestation du paludisme en Afrique subsaharienne, dans la population des enfants de moins de 5 ans (Snow et al. 1994).

---

<sup>44</sup> On a pu montrer que la recherche 1x/ semaine détectait 75% des cas identifiés durant un suivi 1x/ jour, et si celui-ci s'espace à 1x/ mois, le pourcentage chute à 25%. Ensuite la problématique de la définition du cas de paludisme discuté plus haut pose des problèmes évidents dans le domaine de l'épidémiologie. Une manière de parer au problème de la définition de l'accès palustre par la présence de parasite ou par densité parasitaire consiste à faire la différence d'incidence entre les deux attitudes et de corriger les résultats des études en additionnant cette différence. La morbidité ainsi calculée estime à 1 épisode par enfant entre 0 et 4 ans et par année, 0.25 entre 5 et 14 ans, et 0.4 pour les adultes.

<sup>45</sup> La proportion d'enfants atteints de paludisme cérébral a été estimée dans des pays à différents niveaux d'endémicité, à 1.82 pour 1000 par an chez les 0 à 4 ans, à 0.35 chez les 5 à 9 ans. Le CFR du paludisme cérébral est de 16.3%. Sont exclus de ces évaluations les enfants qui n'arrivent pas jusqu'à un centre de santé. On estime la proportion d'enfants atteignant un centre de santé capable de gérer un paludisme cérébral à 35.9%. Le risque de séquelles neurologiques évalué à 6 mois, est de 5.6%. L'incidence de l'anémie palustre sévère est de 7.61 pour mille enfants entre 0 et 4 ans, 0.47 entre 5 et 9 ans. Le CFR est de 9.7%. La séquelle principale en cas de survie est la persistance d'une anémie d'une part, et d'autre part l'infection par le virus VIH dont la prévalence dans la banque de sang de Kinshasa est de 6.5%, ou autrement dit l'OR d'être séroconverti après une, deux et trois transfusions est de 3.5, 21.5 et 43 respectivement au Zaïre.

<sup>46</sup> La part de la mortalité palustre attribuable à la forme cérébrale a été estimée à 1.2 pour mille enfants en dessous de 5 ans par année. Dans l'évaluation de la morbidité, les séquelles neurologiques, même si rares, représentent un poids considérable au niveau social et économique, dans un continent où la prise en charge de cécité corticale, surdité ou anoxie cérébrale ne bénéficient pas du même cadre que dans les pays du nord. La part de la mortalité palustre attribuable à l'anémie palustre a été estimée entre 2 et 10.3 pour mille, la détresse respiratoire à 1.2 pour mille, l'hypoglycémie entre 1.4 et 2.2 pour mille, et les bas poids de naissance secondaire au paludisme maternel entre 3 et 17 pour mille. La mortalité due à l'anémie palustre et au bas poids de naissance présente une fourchette très large, probablement en raison de la forte proportion de mortalité indirecte qu'engendrent ces 2 conditions, rendant les mesures plus difficiles. Par ailleurs, lors de l'estimation de la mortalité due à l'anémie palustre, il existe des différences importantes dans l'estimation de l'anémie sévère palustre entre les différentes études, principalement intra-hospitalières.

Les valeurs retrouvées dans la littérature sont divergentes, ce qui s'explique clairement par la difficulté à définir de manière convenable l'accès de palustre simple et la mortalité attribuable au paludisme. Elle se situe selon les études entre 4% (Vaahtera et al. 2000)<sup>47</sup> et 3.3% (Reyburn et al. 2005)<sup>48</sup>.

## Saisonnalité

### *Définition de la saisonnalité*

On peut définir la saisonnalité comme la variation de la transmission du paludisme au cours d'une année en fonction de la saison. Ce phénomène est en partie déterminé par les variations de précipitations qui, elles-mêmes, expliquent la différence dans la densité de la population des moustiques, en particulier *Anopheles*. Certains auteurs fixent une limite arbitraire et parlent de paludisme saisonnier lorsque la transmission dure moins de 6 mois par année. Ils partent du principe que le niveau de précipitations et les températures sont les principaux facteurs déterminant la transmission. Ainsi, les régions à transmission *per annuelle* sont définies par des conditions climatiques telles qu'elles permettent une transmission tout au long de l'année, les régions à *transmission saisonnière* celles où la transmission survient durant quelques mois, des régions à *transmission épidémique* où les variations climatiques à long terme rendent la transmission irrégulière et les régions *libres de paludisme* (non endémiques) (Craig et al. 1999).

On constate tout d'abord que, dans les différentes études, les variations climatiques sont notées à côté de la *force de transmission*, en des termes divers : saison sèche et saison humide (Olaleye et al. 1998, Weber et al. 1997), transmission pérenne avec une distribution saisonnière des pluies (Genton et al. 1994), stable (Gomes et al. 1994), transmission basse durant toute l'année avec *un seul* (Rooth & Bormann 1992a) ou *deux* pics saisonniers (Luxemburger et al. 1998). On parle enfin de transmission *stable* ou *instable*, cette dernière dénomination étant vraisemblablement impropre (Hamad et al. 2002)<sup>49</sup>.

Cette diversité dans la description de la répartition de la transmission du paludisme au cours de l'année, voire de périodes plus longues, reflète le grand nombre de conditions climatiques favorables à l'endémie palustre, mais aussi l'absence de définition de la saisonnalité et les

---

Il semble cependant indiscutable que l'anémie palustre est la complication majeure mortelle du paludisme en région de forte endémie chez les nourrissons. Dans les régions à transmission stable, la mortalité moyenne a été estimée à 9.4 pour 1000. Dans les régions de transmission instable, la mortalité est en moyenne de 235.13 pour 1000 en Ethiopie. Ces chiffres élevés sont tirés d'études réalisées dans une région où une épidémie survient tous les 30 ans, dans une population quasi non-immune, sans infra-structure de santé permettant la prise en charge d'une telle épidémie. L'évaluation de la morbidité, tirée d'études réalisées dans des régions arides d'altitude donne une incidence annuelle de 976 par 1000. Ces épidémies durent environ 3 mois et surviennent tous les 3 à 5 ans. Ces chiffres sont compatibles avec ceux rencontrés dans une population non-immune ce qui indiquerait que les gens vivant dans ces régions à transmission épidémique n'ont pas développé d'immunité anti-palustre.

<sup>47</sup> L'étude consiste en un suivi des fièvres mensuelles et l'accès de paludisme est défini comme une fièvre sans autre symptôme et la cause de la mortalité a été estimée par une technique d'autopsie verbale.

<sup>48</sup> "Among the 1227 cases without respiratory distress, severe anemia, or cerebral malaria there were 40 deaths (3.3%); in this group, case fatality did not vary between categories of moderate anemia, prostration, confusion, or jaundice ( $P = .90$ ). Although those with hemoglobin levels between 5 and less than 8 g/dL did not meet World Health Organization criteria for severe malaria, they had a significantly greater case-fatality rate (3.1%) than those who did not have severe malaria or moderate anemia (0.9%) ( $P < .001$ )"

<sup>49</sup> Au Soudan dans un climat de savane sèche caractérisé par une saisonnalité marquée avec une courte saison des pluies de juin à septembre suivi d'une longue saison sèche de octobre à mai. Les chutes de pluies annuelles moyennes sont de 700 mm. Malgré l'absence de capture de moustiques durant cette période, les examens parasitologiques révèlent la persistance de porteurs asymptomatiques de parasites. Il faut relever que les études sur les relations entre la transmission et la morbidité sont peu nombreuses et que les études entomologiques souffrent d'un manque de méthodologie quant à l'évaluation de la morbidité.

nombreuses incertitudes sur les liens entre la saisonnalité, la transmission, l'infection et la morbidité palustre. Ainsi, malgré une transmission clairement saisonnière, un certain nombre d'études n'analysent pas les données de manière distincte selon la saison (Prybylski et al. 1999) (Weber et al. 1997) (Petersen et al. 1991). Petersen, par exemple, considère la saison comme modificateur de l'effet (effet confondant).

#### *Lien entre saisonnalité et morbidité / mortalité*

1) Pluviosité → 2) EIR → 3) indice plasmodique → 4) morbidité → 5) mortalité

La notion de transmission saisonnière est en général mentionnée à côté de l'intensité de la transmission lorsqu'il s'agit de juger du niveau d'endémie dans une région. La part de la morbidité et de la mortalité palustre attribuable au caractère saisonnier de la transmission reste incertaine. Dans bon nombre d'études, les variations de la pluviosité 1) se répercutent de manière constante sur les paramètres entomologiques 2), et sur la morbidité palustre <sup>50</sup>(Koram et al. 2000) <sup>51</sup> (Bonnet et al. 2002) <sup>52</sup>(McGuinness et al. 1998) <sup>53</sup>(Olivar et al. 1991) et sur la mortalité palustre 4) <sup>54</sup>(Premji et al. 1995)<sup>55</sup> (Alonso et al. 1993) <sup>56</sup>(Vounatsou et al. 2000), alors que leur répercussion sur l'infection palustre 3) est plus inconstante. Au contraire, d'autres études trouvent un lien clair entre les variations de 1) et 3) <sup>57</sup>(Afari et al. 1993), d'autres encore ne trouvent pas de lien entre les variations de 1) et 2) ou 3) et 4) <sup>58</sup> (Smith et al. 1993). Par ailleurs, certains auteurs soutiennent que le caractère saisonnier de la transmission dans des régions holo-endémiques pourrait influencer le profil de la morbidité en augmentant la proportion de paludisme cérébral et diminuant l'anémie palustre (Muller et al. 2003).

---

<sup>50</sup> L'étude du lien entre l'infection plasmodiale et les différents indicateurs de la maladie palustre dans un contexte de forte endémie montre une variation importante de la proportion de sujets fortement anémiés et du nombre d'accès de paludisme selon la saison alors que la densité parasitaire moyenne et l'indice plasmodique ne varient que très peu.

<sup>51</sup> Une étude compare 2 régions semblables quant à la morbidité, la transmission saisonnière et la prévalence de parasites et de hautes densités parasitaires mais dont l'intensité de transmission diffère d'un facteur 10 mesuré par le taux d'inoculation entomologique. L'auteur explique le manque d'impact de l'intensité de la transmission sur la morbidité par le caractère saisonnier commun aux 2 régions, facteur qui pourrait être plus important que postulé jusqu'ici. Toutefois il faut relever que cette étude définit l'accès palustre sans la mesure de la fièvre car elle se déroule dans une région où l'utilisation du paracétamol est fortement répandue, ce qui peut fausser les données sur la morbidité.

<sup>52</sup> Une autre étude réalisée en Tanzanie dans une région à transmission pérenne avec un pic saisonnier et une force de transmission de 8.5 EIR a mesuré la fraction des fièvres attribuables au paludisme. Celle-ci varie entre 22% en saison sèche et 89% en saison humide.

<sup>53</sup> Dans cette étude au Niger, l'objectif était d'évaluer l'efficacité des directives nationales consistant à traiter toute fièvre d'origine indéterminée. Tout enfant présentant une fièvre > 38°C a été investigué. Les agents de santé ont diagnostiqués 220/270 et 297/299 en saison sèche et saison humide respectivement, contre 10/277 et 162/277 avec une goutte épaisse positive.

<sup>54</sup> Durant un suivi communautaire longitudinal dans une région holo-endémique à transmission saisonnière au Burkina-Faso, tous les décès attribués au paludisme sont survenus durant la saison des pluies. A noter que les directives nationales pour le traitement du paludisme sont de traiter toute fièvre d'origine indéterminée sans aucune mention de la saison.

<sup>55</sup> Dans une étude se déroulant en Gambie 92 % de la mortalité au paludisme se concentre durant la période des pluies alors que l'indice plasmodique et la densité parasitaire moyenne ne montraient pas de variation importante (Greenwood et al. 1987).

<sup>56</sup> Dans cette étude en Tanzanie à Morogoro, il y a une saisonnalité dans l'incidence de la fièvre mais pas dans les densités parasitaires par tranche d'âges.

<sup>57</sup> Dans cette étude réalisée dans une région à saisonnalité marquée des variations importantes de l'indice plasmodique et des hautes densités parasitaires ont pu être observées.

<sup>58</sup> Une étude en zone sub-saharienne caractérisée par une saisonnalité marquée a permis d'étudier le lien entre les données pluviométriques, la force de transmission et la morbidité. Ainsi dans une région hyperendémique à transmission saisonnière on retrouve une variation importante du taux d'inoculation entomologique entre les saisons et entre les différentes maisons où les prises de moustiques ont été réalisées alors que l'indice plasmodique ainsi que probablement la morbidité varient peu. L'incidence de fièvre est beaucoup plus élevée en saison humide qu'en saison sèche ce qui serait dû selon l'auteur plutôt à la perception des fièvres de la population selon la saison.

Les études d'impact du développement de rizières en zone méso endémique représentent une situation intéressante permettant d'évaluer l'influence de la saisonnalité sur la morbidité. Les indicateurs de la transmission palustre et ceux de la morbidité ont été comparés dans les régions irriguées et les régions non irriguées se trouvant à proximité. Le résultat global est une diminution de la morbidité annuelle de moitié dans les zones irriguées (Dolo et al. 2004). L'étude évalue la morbidité lors d'un suivi longitudinal par un système de détection passif qui présente l'avantage sur les études transversales de ne pas être influencé par la variation importante de semaine en semaine des densités parasitaires moyennes, de l'indice plasmodique et de l'incidence des cas de paludisme. Toutefois l'EIR suit les mêmes variations et devrait idéalement aussi faire l'objet d'une étude longitudinale, ce qui en raison de l'ampleur des moyens nécessaires à la capture des moustiques semble difficilement réalisable. Etant donné la mise en œuvre et l'interprétation complexe des mesures entomologiques, une approche particulièrement intéressante consiste à mettre en parallèle les données pluviométriques et celles de la morbidité et de la mortalité palustre (Ndiaye *et al.* 2001) (Bi et al. 2003).

On peut donc conclure, à l'instar d'un certain nombre d'études citées plus haut que la saisonnalité influence de manière inconstante la proportion de porteurs de *Plasmodium* dans la population et de manière décisive la morbidité et la mortalité palustre (Dolo et al. 2004) (Bonnet et al. 2002). Faut-il y voir une relation entre le fait que l'indicateur populationnel qui varie le plus selon la saison n'est pas l'indice plasmodique mais le taux d'hématocrite ? (données personnelles ; voir ci-après).

Par conséquent, la relation entre infection et maladie, fièvre et autres manifestations diffère selon la saison<sup>59</sup> (Vounatsou et al. 2000). Le lien entre les différents prédicteurs d'accès de paludisme change entre la saison sèche et la saison humide. Par exemple, durant un suivi longitudinal en saison humide un âge inférieur à 4 ans est le meilleur prédicteur de fièvre alors qu'en saison sèche l'anémie s'avère être le meilleur prédicteur de survenue de la fièvre (Bouvier et al. 1997). De même, dans une étude cas-témoins réalisée dans un hôpital périphérique, le lien entre les fièvres d'origine indéterminée et le degré de parasitémie était clair en saison humide avec une corrélation « dose (densité parasitaire) –réponse », alors qu'en saison sèche ce lien n'était présent que dans une moindre mesure et il n'existait pas de lien « dose –réponse » (Rougemont et al. 1991).

A la lumière des différences saisonnières importantes de la force (et probablement de la nature) du lien entre l'infection et la maladie, il est étonnant de constater le petit nombre d'études préconisant une interprétation différenciée des données entre la saison sèche et la saison humide dans les travaux de recherche et pour de la prise en charge des accès palustres<sup>60</sup> (Oster et al. 2000).

### **Approche par algorithmes cliniques**

La clinique d'un accès de paludisme simple est décrite dans les livres de référence comme d'évolution imprévisible, avec une clinique aspécifique proches des manifestations d'un état grippal : céphalées, myalgies, gêne abdominale, asthénie voir somnolence précédant la fièvre de 2 jours. La température apparaît de manière erratique accompagnée de frissons, aggravation des céphalées, malaise et perte d'appétit. Les enfants sont irritables, léthargiques et anorexiques. On parle classiquement d'un paroxysme avec élévation de la température au-dessus de 39°C avec

---

<sup>59</sup> Dans cette étude on retrouve une différence d'incidence de la fièvre pour une parasitémie donnée abaissée en saison sèche parmi les nourrissons de moins de 6 mois, en d'autres termes en saison sèche ces enfants font des fièvres pour des parasitémies moins élevées qu'en saison sèche.

<sup>60</sup> Oster et ses collègues tentent, dans leur étude, de dégager une attitude pratique de diagnostic clinique dans un hôpital de district en Tanzanie, dans une zone holo endémique à transmission saisonnière parmi la population adulte. Ainsi ils proposent de traiter toute fièvre d'origine indéterminée en saison des pluies sans examen hématologique et en saison sèche de ne traiter que les fièvres d'origine indéterminée confirmée par la microscopie.

sensation de froid intense accompagné d'obnubilation, de vasoconstriction périphérique suivi d'une phase de vasodilatation, de transpiration et de somnolence.

Nous allons voir dans le prochain chapitre quelles sont les différentes approches utilisées pour valider un algorithme clinique visant à attribuer une fièvre à une infection palustre. Nous rappellerons d'abord les objectifs de ces études et leurs « design » puis nous tenterons d'en décrire les conséquences sur les résultats inconstants obtenus.

### *Objectifs des différentes études*

L'absence de spécificité du diagnostic de l'accès palustre et le manque de laboratoire en périphérie ont poussé les chercheurs à dégager des éléments cliniques capables de prédire avec un degré de certitude acceptable un diagnostic de paludisme défini par la présence de fièvre ou histoire de fièvre avec parasites à la microscopie, question sans grand intérêt qui, comme nous l'avons vu, résulte de la confusion entre infection plasmodiale et accès palustre. C'est aussi pourquoi la pénurie de personnel médical qualifié dans les zones rurales a poussé les chercheurs à développer des outils de diagnostic clinique simples sous forme le plus souvent de score utilisable par un personnel plus ou moins expérimenté et de l'évaluer en le confrontant à un diagnostic réalisé par un médecin expérimenté, diagnostic à son tour confronté au diagnostic parasitologique. On retrouve donc d'une part la volonté de remplacer la microscopie par un diagnostic clinique qui resterait aussi sensible que le diagnostic de présomption édicté par l'OMS mais qui serait plus spécifique et, d'autre part, de suppléer la capacité à diagnostiquer d'un médecin expérimenté.

Ainsi, Gomes recherche des symptômes et signes cliniques qui prédisent avec plus de fiabilité que la définition de l'OMS la présence de parasites à l'examen hématologique. On retrouve cet objectif dans un grand nombre d'études (Olivar et al. 1991, Redd et al. 1996). Dans l'étude de Genton il s'agit également de trouver des éléments cliniques permettant de « confirmer » le diagnostic de paludisme clinique mais également de trouver des indicateurs permettant d'exclure ce diagnostic. Une autre étude valide l'algorithme de prise en charge intégrée des pathologies pédiatriques (IMCI) en le confrontant au diagnostic clinique du pédiatre ou la mise en évidence des parasites du paludisme (Weber et al. 1997). L'objectif d'une autre étude est de trouver la proportion de fièvres palustres et identifier des symptômes et signes prédisant ce diagnostic (Muhe et al. 1999). L'objectif d'une étude menée en Gambie était de valider un tel algorithme clinique par des agents de santé en le comparant au diagnostic posé par un pédiatre expérimenté. Toutes ces études « à base » d'algorithmes cliniques ont cependant pour objectif général de « suppléer » à l'incapacité de poser un diagnostic « confirmé » par la parasitologie par une « approximation » clinique, la découverte des parasites à l'aide de la microscopie ou des RDT restant le « gold standard ».

Rappelons ici que la question ainsi posée est trompeuse puisqu'il s'agit en réalité de passer de la notion d'infection, seul élément prouvé par la mise en évidence du parasite à celle de maladie (ou « syndrome ») palustre définie par la présence de parasite à laquelle doivent obligatoirement s'associer un certain nombre de signes et symptômes ainsi qu'une potentialité évolutive bien définie. Le développement et la validation d'un algorithme clinique tient donc davantage de la recherche d'un véritable « gold standard » encore inexistant que d'une approche empirique et approximative face au soi-disant « gold standard » qu'a toujours représenté la mise en évidence de la seule infection palustre souvent présente chez la majorité des sujets d'une population par ailleurs asymptomatique.

Pratiquement, dans la plupart des études, une constellation de signes et symptômes déterminant un score, établi par le personnel soignant, (Chandramohan et al. 2001) (Bojang et al. 2000) permet le diagnostic des cas de paludisme aussi efficacement qu'un pédiatre expérimenté « privé » de laboratoire.

### *Définition des cas d'accès palustre*

Parmi les tentatives d'élaboration d'algorithmes cliniques on trouve, dans la littérature, des études qui recherchent, parmi une population de consultants, des regroupements de signes et symptômes, dont avant tout la fièvre, qui seraient prédicteurs d'une parasitémie détectable ou d'une haute densité parasitaire. Les cas sont comparés à des témoins sans fièvre. Dans ces études les cas sont choisis en fonction d'une température dépassant un certain seuil (Olivar et al. 1991, Rougemont et al. 1991), soit d'une fièvre mesurée ou une anamnèse de fièvre (Luxemburger et al. 1998), ou encore tout patient considéré comme présentant un accès palustre par le personnel infirmier (Genton et al. 1994), ou même tout patient se présentant à l'hôpital (Redd et al. 1996). D'autres études considèrent la présence de fièvre et/ou une histoire de fièvre plus une parasitémie détectable comme diagnostic de référence et y confrontent différents diagnostics cliniques (Chandramohan et al. 2001, Muhe et al. 1999, Olaleye et al. 1998, Snow et al. 1997) (Rooth and Bjorkman 1992).

Dans un certain nombre d'études utilisant une définition déterministe de l'accès de paludisme, on emploie néanmoins des « odds ratio » (notion fondamentalement probabiliste) pour comparer le lien entre le paludisme et les différents éléments cliniques investigués (Weber et al. 1997 Genton et al. 1994)<sup>61</sup>. On peut relever une attitude intéressante chez Weber consistant à mesurer d'une part le risque relatif (*odds ratio*) de certains symptômes ou signes de splénomégalie pour la présence de parasite et d'autre part pour le paludisme clinique défini comme la présence de fièvre ou histoire de fièvre et présence de parasites. Dans presque tous les cas, on trouve la volonté explicite de mettre en évidence des prédicteurs de l'infection palustre qu'il faudra confronter à un *gold standard* prédéfini.

A la base, la définition des cas diffère en fonction des deux variables habituellement pris en compte en première intention : une valeur seuil définissant la fièvre, confrontée, après des décennies de « goutte épaisse positive ou négative », à un seuil de densité parasitaire définissant une première approximation de la causalité entre fièvre et parasitémie. Selon les auteurs, ces deux valeurs diffèrent de façon telle que leur utilisation dans un processus décisionnel en devient problématique ; ainsi :

Bojang : définit une température *axillaire* > 37.5°C et une parasitémie >5000 p/μl

Muhe : une température *rectale* > 38°C et parasitémie détectable avec, dans un deuxième temps avec un seuil > 10 000 p/μl

Olivar : température *corporelle* >38°C (la méthode utilisée pour la mesure de la température n'est pas précisée) et une parasitémie > 10 000 p/μl,

Genton : *fièvre* axillaire > 38°C et parasitémie détectable, puis dans un deuxième temps > 10 000 p/μl.

Gomes : une histoire de fièvre, une fièvre > 37.6°C (sans précision sur la méthode de mesure) ou une histoire de « chilly rigor » (« paludisme » dans la langue autochtone) et une parasitémie détectable.

Chandramohan : présence de fièvre (pas d'indication quant à la méthode utilisée pour mesurer la fièvre) ou histoire de fièvre et parasitémie détectable.

Weber : fièvre ou histoire de fièvre et parasitémie détectable et, dans un deuxième temps, seuil à > 5000 p/μl.

---

<sup>61</sup> Weber mesure un *odds ratio* pour prédire un paludisme clinique, défini comme une fièvre ou une histoire de fièvre avec une parasitémie > 5000 p/μl et un *odds ratio* pour prédire une parasitémie détectable ou une parasitémie > 5000 p/μl.

Luxemburger : fièvre ou histoire de fièvre et parasitémie détectable.  
Rooth et Bjorkman : température axillaire  $> 37.5^{\circ}\text{C}$  et parasitémie détectable  
Gomes : *fièvre ou histoire de fièvre* et parasitémie détectable  
Redd : fièvre  $\geq 38^{\circ}$  axillaire ou histoire de fièvre et parasitémie détectable avec, dans un deuxième temps seuil  $> 10\ 000\ \text{p}/\mu\text{l}$ .  
Olaleye : température *axillaire*  $\geq 38^{\circ}$  et parasitémie  $> 5000/\mu\text{l}$  utilisés comme *gold standard*.  
Weber : température *rectale*  $\geq 38^{\circ}$  ou histoire de fièvre avec parasitémie  $> 5000\ \text{p}/\mu\text{l}$ .  
Rougemont : température buccale  $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$  en combinaison avec d'autres éléments cliniques et écologiques chez des *cas* fébriles et des *témoins* non fébriles, chaque sujet bénéficiant d'une mesure de la densité parasitaire sans seuil préalablement déterminé.

### ***Différences méthodologiques dans l'évaluation des algorithmes cliniques.***

Selon le *design* des études, les critères de définition et d'inclusion des cas et des témoins diffèrent. La population étudiée elle aussi diffère d'une étude à l'autre. De fait, c'est surtout la population-témoin qui diffère selon les études et rend les résultats difficilement comparables. Redd, Weber et Rougemont ont pris tous les patients se présentant à la clinique, Muhe, Olaleye, Gomes, Bojang et Chandramohan ainsi que Rooth/Bjorkman et Luxemburger ont pris tous les patients se présentant avec de la fièvre, lors de la consultation ou une histoire de fièvre durant les trois derniers jours ou dernières 24 heures, enfin Genton a pris comme population étudiée tous les patients diagnostiqués comme accès palustre par le personnel infirmier au centre de santé. Olivar étudie une population d'enfants présentant une température dépassant  $38^{\circ}\text{C}$ . Chez Gomes les critères d'inclusion sont une température mesurée dépassant  $37.6^{\circ}\text{C}$ , une histoire de fièvre ou une anamnèse de frissons (*chilly rigor*) durant la semaine précédente.

Dans toutes les études prenant comme élément décisif la fièvre pour choisir les cas, la manière de prendre la température et le seuil choisi diffèrent sensiblement d'une étude à l'autre, ce qui change le profil des cas et des témoins. De plus certaines études considèrent un cas de paludisme clinique comme toute fièvre ou histoire de fièvre et d'autres ne considèrent que les fièvres dépassant un certain seuil. On observe parfois que l'intensité de la fièvre est corrélée avec la densité parasitaire, mais ce caractère est loin d'être constant. Une seule étude à notre connaissance (voir plus haut) met clairement (bien qu'involontairement) le doigt sur une alternative intéressante et pourtant élémentaire, à savoir la définition de l'accès palustre par la densité parasitaire *mesurée* associée à une fièvre estimée fièvre *estimée* vs l'inverse. La piste est à suivre.

Le seuil de température choisi pour définir un cas de paludisme est capital pour une étude visant à élaborer un algorithme clinique (Anne-Lise Moret / Accès de fièvre et paludisme chez les enfants de 2-9 ans : une étude cas-témoin dans un dispensaire du Niger, Genève : [s.n.], 1989). Le but visé par les personnes ayant choisi toute histoire de fièvre ou toute fièvre mesurée est d'obtenir une sensibilité maximale afin de ne « manquer » aucun cas de paludisme (considéré comme potentiellement mortel). Toutefois l'objectif doit dans un premier temps consister à définir un cas (fébrile) le plus probablement d'origine palustre afin d'y attribuer des symptômes et signes cliniques, sur lesquels, par la suite, on pourra se reposer comme aide à la décision. On peut, par exemple, suspecter un cas de paludisme en présence d'une température rectale ou orale égale ou supérieure à  $38^{\circ}$ . Si le seuil de  $37,5^{\circ}\text{C}$  est choisi, on inclura parmi les « cas » des patients dont la probabilité d'avoir un paludisme clinique est moindre <sup>62</sup> (« sensibilité » plus élevée mais

<sup>62</sup> Ainsi on peut relever que certaines études se déroulant dans des régions endémiques prennent le seuil de 10 000 p/microl. mesuré par la méthode développée par Armstrong-Schellenberg. Toutefois cette définition qui est la présence d'une fièvre dépassant  $38^{\circ}\text{C}$  et ce seuil de parasitémie présente une sensibilité et une spécificité de 80%. Quelle est donc la sensibilité et la spécificité d'une définition englobant toute fièvre et histoire de fièvre ?

« spécificité » plus basse). Dans une autre perspective, Mc Guinness définit le « cas de fièvre » de 2 manières : D1 comme une température  $> 37.5^{\circ}\text{C}$  ou D2 comme une température  $>37.5^{\circ}\text{C}$  ou une histoire de fièvre durant les 2 dernières semaines. Il obtient des fractions attribuables au paludisme moindre lorsqu'il utilise la définition incluant l'anamnèse. « *The attributable was consistently lower for D2 than for D1, suggesting either that recall of fever was less accurate than measured fever or that many recalled fevers were due to causes other than malaria.*(McGuinness et al. 1998). »

Ainsi on constate que les trois seules études qui définissent la fièvre mesurée dépassant un certain seuil, aboutissent à de meilleurs résultats de sensibilité et de spécificité que ceux retrouvés dans les autres études. Ceci montre la nécessité de définir un cas de paludisme par la fièvre mesurée et donc le plus probablement d'origine palustre afin de ne pas introduire un biais de confusion lors de la tentative de lui opposer des signes et symptômes par nature polymorphe. Ces différences peuvent également être dues au hasard ou à des différences géographiques. Néanmoins certains indices montrent que la motivation des parents à venir consulter pour une fièvre est un indicateur fiable de la maladie palustre. Certains auteurs trouvent, au niveau communautaire, un lien plus fort entre la fièvre rapportée et la densité parasitaire qu'avec la fièvre mesurée. Ce fait devrait donc être pris en compte dans la décision finale de traiter. « *History of recent fever, perceived as malaria by the community, appeared to be a reliable indicator of malaria morbidity in our study for number of reasons. Firstly, reported febrile illness with the previous 12 h, with or without an elevated temperature, was generally associated with higher parasite prevalence and density in the surveillance and self-reported fever cases than in the afebrile cases. Secondly, this study has shown that transition between an afebrile and self-reported febrile state was associated with an increase in parasite density within an individual. Thirdly, incidence of history of fever correlated with seasonal variation in parasite prevalence and mean density, relating to an increase in malaria transmission in the wet season by comparison with the dry season.* (Cox et al. 1994). »

### ***Expérience des personnes réalisant l'étude***

L'anamnèse et l'examen physique sont réalisés par des professionnels de santé plus ou moins expérimentés, allant de l'infirmier(ère) au pédiatre expérimenté en passant par l'étudiant en médecine. Cela influence passablement la fiabilité des observations et permet une différenciation plus ou moins précise des fièvres d'autres origines dont l'importance ne fait qu'augmenter avec la multiplication des études étiologiques jusqu'ici passablement négligées.

### ***Moyen utilisé pour mesurer la fièvre***

La mesure axillaire de la fièvre présente davantage de faux positifs que la mesure rectale (88% de spécificité par rapport à la mesure rectale) surtout en milieu tropical où la température ambiante élevée.

Si l'on compare les méthodes pour prendre la température, la différence moyenne entre la température rectale et la température axillaire est de  $0.56^{\circ}\text{C}$  avec un écart-type important, de l'ordre de  $0.76^{\circ}\text{C}$ , ce qui, pour deux écart-types de part et d'autre de la moyenne donne une dispersion allant de  $-0.5^{\circ}\text{C}$  et  $2.03^{\circ}\text{C}$ . De plus la différence entre ces deux mesures augmente avec la température se situant vers  $0.4^{\circ}\text{C}$  entre  $36.5$  et  $37.5^{\circ}\text{C}$  et vers  $1^{\circ}\text{C}$  au-dessus de  $39^{\circ}\text{C}$  (Falzon A

---

(Muhe et al. 1999) Dans des régions endémiques prennent le seuil de 10 000 p/microl. Mesuré par la méthode développée par Armstrong-Schellenberg. Toutefois cette définition qui est la présence d'une fièvre dépassant  $38^{\circ}\text{C}$  et ce seuil de parasitémie présente une sensibilité et une spécificité de 80%. Quelle est donc la sensibilité et la spécificité d'une définition englobant toute fièvre et histoire de fièvre ?

2003). Une revue de la littérature plus récente souligne les différences importantes de l'intervalle de confiance de la distribution de la mesure de la température basale, dans l'ordre décroissant : oral, rectal, tympanique et axillaire. La température dépend également de facteurs individuels. Elle est en moyenne plus basse dans les tranches d'âges les plus élevées et chez les femmes ménopausées, comparées aux hommes ou aux femmes non-ménopausées (Sund-Levander et al. 2002). La variation nyctémérale de la température dépend aussi de la méthode de mesure (entre 0.1 et 0.4 pour la mesure rectale et orale, entre 0.2 et 1.7 pour la mesure auriculaire, et entre 0.1 et 0.9 pour la mesure axillaire). Enfin, les différences selon les différentes méthodes présente une forte variabilité inter-individuelle (Sund-Levander et al. 2004).

Dans l'étude de Redd 1996 les températures axillaire et rectale ont été mesurées. L'intensité croissante de la température axillaire était un peu moins valable comme indicateur de la présence de parasite que la mesure rectale, indiquant peut-être la validité moindre d'une méthode comportant un intervalle de confiance plus important.

### *Cadre des études*

Une proportion importante des enfants avec accès de fièvre n'est pas amenée au centre de santé. Cette proportion est très variable selon les régions : environ 80 % pour (Pagnoni et al. 1997), consulte au centre de santé. Dans l'étude de Lindblade en Tanzanie, où le 3/4 de la population du district est éloignée de 5 kilomètres ou plus du centre de santé, la proportion consultante se situe autour de 60%. Dans une autre étude au Togo seuls 20% des cas suspectés sont amenés au centre de santé et parmi ceux-là seuls 17% ont consulté le premier jour de la maladie (Deming et al. 1989). Au Malawi environ 40% des enfants malades ne sont pas amenés au centre de santé. Les facteurs principaux influençant la proportion de consultation sont la disponibilité des médicaments (Lindblade et al. 2000, Pagnoni et al. 1997), l'efficacité du personnel de santé et sa reconnaissance par la communauté, les difficultés physiques à atteindre le centre de santé, la gravité des symptômes<sup>63</sup>(Muller et al. 2003) et la connaissance qu'ont les mères de la maladie.

Le cadre choisi pour mener les investigations influence la population étudiée ainsi que le profil de la présentation clinique de la maladie comme évoqué dans le chapitre précédent (Gomes et al. 1994)<sup>64</sup>. L'étude comparée du paludisme clinique en communauté et dans les centres de santé montre que les personnes en charge des enfants malades ont une appréciation souvent correcte du paludisme clinique (Redd et al. 1996)<sup>65</sup>.

En résumé, des mesures aussi centrales que la fièvre ou l'histoire de fièvre n'ont pas la même signification si elles sont mesurées à un niveau communautaire ou dans un centre de santé. La décision des parents de venir consulter est le facteur déterminant à l'origine des différences dans les

---

<sup>63</sup> Chez Lindblade en Tanzanie les symptômes des enfants < 5 ans les plus fréquemment recueillis auprès des parents les motivant à consulter sont dans l'ordre décroissant, la fièvre, une respiration profonde, des frissons et la transpiration sans pour autant arriver à hiérarchiser la gravité des différents symptômes. Dans une autre étude c'est la fièvre élevée qui poussait les mères à consulter au centre de santé. On peut relever également dans l'étude communautaire longitudinale de morbidité et mortalité de O.Muller que les parents semblaient relier correctement les manifestations graves, anémie et coma à une origine palustre ce qui néanmoins ne se confirme pas dans d'autres études. Dans cette étude les enfants avec une fièvre élevée >38.5°C ont consulté dans une plus grande proportion dans un centre de santé ou un hôpital.

<sup>64</sup> Une étude compare la fièvre et ses caractéristiques comme prédicteur de la présence de parasite dans un centre de santé et dans la communauté. Elle montre que la fièvre accompagnée de transpiration et de frissons est un meilleur prédicteur dans la communauté qu'au centre de santé, indiquant que la clinique serait plus utile dans la communauté que dans un centre de santé

<sup>65</sup> Dans une région où un centre de santé non payant côtoie un centre de santé privé, le fait de consulter au centre de santé privé représente l'association la plus forte avec la parasitémie.

résultats obtenus. Ainsi, partant du fait qu'une grande majorité des enfants présentant une fièvre ne consultent pas, la sélection effectuée par les parents ainsi que le temps écoulé entre le début de la maladie et la consultation modifient la composition de la population étudiée ainsi que la présentation de la maladie.

Toutes les directives quant au traitement des fièvres palustres devraient donc procéder de manière différenciée selon le niveau d'intervention auquel elles s'adressent (communauté ou centre de santé).

### ***Comparaison des études selon le niveau d'endémie***

Dans le chapitre suivant nous allons discuter les résultats des études d'algorithme clinique dans différents contextes endémiques, avec un éclairage particulier sur les différences méthodologiques.

#### *Études réalisées dans des régions hypo à méso endémiques*

L'étude de Chandramohan se déroule sur 3 ans dans un hôpital à Surat. Sont inclus les enfants entre 0 et 14 ans consultant et rapportant une histoire de fièvre (Chandramohan et al. 2001). Les adultes de plus de 15 ans sont examinés par le médecin réalisant l'étude et peuvent aussi être inclus. Un examen hématologique est réalisé pour les patients fébriles. Toute personne ayant reçu un traitement préalable est exclue. Les cas sont définis par la présence de parasite à l'examen hématologique. La « fièvre » est définie comme une température supérieure à 37°C ou une « histoire de fièvre »...

Dans les régions où la prévalence d'une parasitémie asymptomatique est faible comme dans une région urbaine en Inde où elle est de 2.2% (Chandramohan et al. 2001), la recherche microscopique des parasites se justifie davantage que dans les régions à forte endémie (Perneger et al. 2006). Cependant, dans cette étude, l'absence de données concernant la parasitémie parmi les témoins hormis des données transversales indiquant la prévalence de parasitémies positives dans la population asymptomatique ne permet en aucun cas de valider de manière sûre le diagnostic de paludisme défini ci-dessus, puisqu'on ne peut pas comparer cas et témoins sur la base de la parasitémie. De plus, le seuil de 37°C, comme évoqué plus haut, est probablement trop bas pour définir un accès de paludisme.

Dans le cadre de l'évaluation du IMCI (*Integral Management of Childhood Illness*) développé par l'OMS, on a mesuré l'utilité des signes et symptômes suivants dans le diagnostic de l'accès palustre: histoire de fièvre intermittente, frissons, transpiration et tremblements, température corporelle prise au niveau de l'abdomen comparée à la température rectale, pâleur conjonctivale, de la langue et palmaire, comparée à la mesure de l'hémoglobine (Weber et al. 1997). Le diagnostic de paludisme dans cette étude était défini comme la présence de fièvre ou histoire de fièvre avec une parasitémie détectable et, dans une deuxième analyse une parasitémie >5000 p/µl. Les agents de santé ont estimé à 10 x plus la prévalence d'accès de paludisme comparé au diagnostic du pédiatre, ce qui donne une sensibilité de 100% et une spécificité de 7%... La splénomégalie donnait un OR de 3.3 pour un paludisme clinique et la pâleur qualifiée de sévère (anémie sévère ?) était associée à un OR de 23.8. L'OR augmente de 0.95 par degré de température. Ainsi, pour une température >38°C et une rate palpable ou une pâleur modérée à sévère, la sensibilité et la spécificité se situent respectivement à 77% et 51% pour la présence de parasite et de 88% et de 51% respectivement pour le diagnostic clinique de paludisme (>5000 p/µl). Avec l'âge, la sensibilité de ce diagnostic clinique diminue et, de ce fait, sa spécificité augmente. L'étude se déroule en Gambie dans une région à transmission per-annuelle saisonnière dont le pic se situe entre août et décembre. La saison n'a pas été prise en compte comme variable formelle (dépendante ou indépendante) dans une région qui pourtant présente une saisonnalité évidente.

En Ouganda, en zone non-endémique, (Lindblade et al. 2000) pendant la saison sèche, une étude comprenait 312 sujets provenant de la consultation d'un centre de santé. Parmi ceux-ci 69 présentaient des parasites à l'examen hématologique et 247 rapportaient une fièvre durant la dernière semaine. La fièvre, prise au niveau axillaire et définie comme une température mesurée supérieure à 37.5°C a été évaluée chez 250 et retrouvée chez 106 patients. Dans ce collectif, la fièvre ne représentait pas un bon prédicteur de parasitémie détectable, variable définissant pourtant, dans cette étude, un cas de paludisme-maladie ; sa sensibilité est en effet trop basse contrairement à la fièvre rapportée. La combinaison des signes et symptômes suivants: fièvre, céphalées, arthralgies, frissons et transpiration, donnaient une sensibilité de 72.5% et une spécificité de 65.1% (VPP 36.5% et VPN 89.5%). Malgré tout, les cas de paludisme ont été définis comme « présence de *Plasmodium falciparum* » incluant ainsi les porteurs asymptomatiques. Bien que l'étude se déroule dans une région hypo-endémique, la proportion de ces derniers est probablement non négligeable. L'infection palustre représente l'état d'infection sans manifestation clinique qui, comme on l'a vu, est à différencier du paludisme-maladie. De plus l'étude a été menée durant la saison sèche, et le rapport entre la clinique et les résultats parasitologiques n'est pas évident en saison sèche, comme il l'a été montré dans un contexte de forte endémie (Rougemont et al. 1991).

Conclusions de l'étude: le diagnostic clinique n'améliore ni la sensibilité ni la spécificité. La fièvre observée n'est pas un bon prédicteur de paludisme, la fièvre rapportée présente une grande sensibilité, ce qui n'est pas étonnant mais sans grand intérêt du fait que la spécificité importe plus pour un traitement correctement ciblé...

Dans l'étude de Luxemburger qui se déroule à la frontière ouest de la Thaïlande, dans un climat comportant deux pics saisonniers de transmission, mai à juillet et novembre à janvier, avec une transmission basse (une seule piqûre infectante par personne et par année), les critères d'inclusion de la population étudiée étaient une température orale >38°C ou une histoire de fièvre d'une durée de moins de 3 jours. Les enfants étaient suivis sur le plan communautaire dans le cadre d'une étude préliminaire d'efficacité vaccinale (Luxemburger et al. 1998). Tout enfant présentant de la fièvre ou une histoire de fièvre durant les 3 derniers jours était référé au centre de santé. Les cas de paludisme ont été définis par la présence d'une histoire de fièvre et une parasitémie détectable durant les 7 jours de suivi après la consultation. Les 96% des cas ont été diagnostiqués le premier jour de consultation. Sur les 1527 cas, 301 présentaient une parasitémie détectable, 10 frottis négatifs au jour 0 sont devenus positifs lors d'un prélèvement ultérieur. La plupart des autres états fébriles étaient des fièvres limitées se résolvant spontanément (56%). L'association entre des symptômes et signes et le paludisme clinique n'a pas changé entre l'analyse uni variée et multi variée. Ces symptômes et signes avaient un OR entre 1.3 et 1.6 ; il s'agissait de céphalées, myalgies, absence de diarrhée et de toux, fièvre confirmée >38°C, anémie clinique, rate palpable, foie palpable. Les meilleures associations étaient une histoire de fièvre, des céphalées en l'absence de toux, et une histoire de fièvre avec fièvre confirmée à l'examen. Dans cette étude l'anémie clinique, une hépato ou splénomégalie ainsi que la nausée avaient une grande spécificité mais une faible sensibilité. Mais ces symptômes et signes sont peu fréquents donc peu utiles.

Premièrement l'analyse des données de cette étude s'est faite en partant d'une population sélectionnée selon un symptôme cardinal définissant le paludisme, la fièvre ou histoire de fièvre ; deuxièmement elle portait sur le niveau communautaire. Ces deux éléments ont influencé la force d'association entre les signes et symptômes et leur origine palustre. Un élément intéressant dans cette étude est le suivi longitudinal des enfants inclus dans l'étude afin d'investiguer la proportion de patients ayant une parasitémie négative au premier jour de consultation et qui deviennent positifs lors d'examen répété durant la semaine suivant la consultation. Cette proportion est très faible,

contrairement à nos propres résultats (voir plus bas). Les auteurs, comme presque tous les autres, concluent à la nécessité du laboratoire dans cette région.

Dans une étude au Pakistan dans le Punjab, en zone méso-endémique, avec un indice plasmodique atteignant un maximum de 43% à la fin de la saison des pluies, une transmission saisonnière, dans un centre de santé périphérique, les signes et symptômes ont été évalués en termes d'*odds ratio* et de fraction attribuables du risque correspondant à différentes catégories de parasitémies (Prybylski et al. 1999). La présence de parasite était associée à un risque accru d'histoire de fièvre, une raideur, des céphalées, une température élevée et une splénomégalie, et ce, de manière plus importante parmi les tranches d'âge supérieures à 13 ans, en partie explicable par le fait que la fraction des fièvres attribuables au paludisme était plus élevée dans cette catégorie-là. De plus, tous ces signes et symptômes étaient associés à la densité parasitaire avec un effet dose-réponse. *On peut noter que l'analyse du lien entre la clinique et la parasitémie n'a pas été réalisée de manière séparée selon la saison bien que ce thème soit en partie traité dans l'article.*

### *Zones holoendémiques*

Une étude se déroulant dans un centre de santé en Gambie (Olaleye et al. 1998), dans une région comportant une brève période des pluies, de juillet à octobre avec une transmission élevée en saison des pluies et basse en saison sèche a recruté, en saison humide, tous les patients de 6 mois à 9 ans se présentant avec une histoire fièvre durant les 3 jours précédant sans autre cause évidente, comme une otite moyenne ou un abcès. Un pédiatre de l'étude a examiné tous les patients relevant les symptômes et signes présents, et a proposé un traitement sans avoir pris connaissance des résultats du laboratoire (frottis hématologique, hémocrite). Ces résultats étaient par contre connus de l'infirmière du dispensaire qui ajoutait un traitement antipaludique si nécessaire. Après analyse de la valeur prédictive des symptômes et signes de la parasitémie > 5000 p/μl, un algorithme clinique à 9 termes prédit dans une région hypo endémique en Gambie un accès de paludisme avec une sensibilité de 89% et une spécificité de 61%, valeurs comparables à celles obtenues par le pédiatre expérimenté sans l'aide de laboratoire. Les patients diagnostiqués comme ayant le paludisme avaient en moyenne un degré de température de plus que les autres patients (39.4°C contre 38.4°C) et 2 points de moins d'hémocrite (29.6% contre 31.4%). Ce système de score est plus efficace selon l'auteur que l'attitude consistant à traiter toute fièvre avec présence de parasite, qui est appliquée actuellement.

Les signes et symptômes utilisés étaient: somnolence, diminution de l'alimentation, absence de toux, frissons, sensation de chaleur à la palpation, toux non-audible, absence de rash, fréquence respiratoire augmentée, rate agrandie. On notera la complexité de cette approche, comparée, par exemple, à celle de Rougemont chez qui des résultats plus robustes (OR allant de < 1 à près de 30 ...) sont obtenus en n'utilisant que les critères « saison », « origine connue ou non de la fièvre » ; « durée anamnestique » et « intensité » de celle-ci (Rougemont et al. 1991).

Dans une région à transmission saisonnière, parmi des enfants âgés de 6 mois à 9 ans (Bojang et al. 2000). Dans cette étude, un algorithme clinique développé précédemment (Olaleye et al. 1998) a été validé par le personnel de santé et comparé au diagnostic clinique du pédiatre et aux résultats parasitologiques. Dans cette étude le cas de paludisme a été défini comme une parasitémie > 5000 p/μl avec une fièvre supérieure à 38°C<sup>66</sup>. Les performances de l'algorithme appliqué par l'acteur de santé montrent une sensibilité de 88% spécificité 62% vs contre une sensibilité de 100% et une spécificité de 71% pour le diagnostic du pédiatre appuyé par le laboratoire. Les signes

---

<sup>66</sup> Notons que les deux approches utilisées jusqu'ici, à savoir « fièvre estimée et/ou anamnestique » + « parasitémie mesurée » vs « fièvre mesurée » + « parasitémie estimée (+ ou -) », se combinent dans l'étude de Bojang et al. (2000). Cette approche mériterait un développement, car ce pourrait être une voie vers une définition « robuste » des cas.

cliniques pris en compte dans cet algorithme ont été: sensation sèche, diminution de l'alimentation, somnolence, frissons, absence de toux, augmentation de la fréquence respiratoire.

Une étude a investigué la différence entre le diagnostic réalisé en communauté et dans un centre de santé aux Philippines dans une région déforestée hyperendémique avec un maximum de précipitation entre août et septembre avec une moyenne de pluviométrie située entre 2000 et 5000 mm/année, sans saisonnalité apparente quant à l'infection et aux manifestations de la maladie. Les enfants ont été recrutés s'ils présentaient une température dépassant 37.6°C, une histoire de fièvre ou une histoire de « chilly rigors », terme synonyme de paludisme dans le dialecte local. Les résultats de cette étude sont exprimés en termes de valeurs prédictives négatives et positives, qui reflètent les préoccupations et les réflexions des acteurs de santé qui sont concernés par le diagnostic de paludisme (Gomes et al. 1994). Ces 2 résultats sont calculés comme la proportion de patients qui présentent un certain symptôme et qui ont une parasitémie détectable. Inversement, la valeur prédictive négative est la proportion de patients ne présentant pas les symptômes et qui n'ont pas de parasitémie détectable. Les auteurs concluent que la présence de fièvre ou histoire de fièvre associée à des frissons, transpirations sont associés à la présence de parasites chez les enfants de moins de 10 ans et ces critères ont une meilleure valeur prédictive dans la communauté qu'au centre de santé.

Une étude se déroulant dans deux hôpitaux de district de 250 lits, l'un public et gratuit, l'autre payant, dans une région à fort taux de transmission (entre 10 et 50 piqures infectantes par année), a inclus tous les enfants de moins de 5 ans sélectionnés par un assistant médical puis examiné par un clinicien (Redd et al. 1996). Un frottis hématologique, ainsi que la mesure de l'hémoglobine ont été réalisés et un traitement adéquat administré après réception des résultats. Une température rectale > 37.7°C, une pâleur du lit unguéal ou une splénomégalie présentaient une bonne sensibilité et une spécificité pour prédire une parasitémie détectable bien que moins sensible que l'histoire de fièvre, critère qui, s'il avait été utilisé, aurait inclus quasiment tous les patients qui se sont présentés à l'hôpital... Dans cette étude les mêmes critères cliniques ont été évalués dans leur capacité à détecter une hémoglobine inférieure à 8 g/dl qui est une manifestation tout aussi grave du paludisme et mortelle que l'accès de paludisme aigu, mais qui n'est le plus souvent pas traitée car ces conséquences sont moins manifestes que celle d'un accès compliqué. Le lien retrouvé entre la pâleur du lit unguéal, la splénomégalie et la parasitémie pourrait représenter une forme de paludisme chronique ou récurrent conduisant à une anémie sévère et qui pourrait avoir une conséquence plus importante au niveau populationnel que les accès palustres aigus. Dans une deuxième analyse les auteurs évaluent ces éléments cliniques dans leurs valeurs prédictives chez des enfants ayant plus que 10 000 p/μl. Il s'agit d'une des seules études réalisées dans un hôpital et non dans un centre de santé périphérique ce qui influence le profil de la population consultante. Dans un tel cadre hospitalier où un certain nombre de ces patients a vraisemblablement consulté un centre de santé auparavant, des données sur la prise préalable d'antipaludiques auraient été judicieuses.

Un élément intéressant de cette étude est l'évaluation du diagnostic d'anémie et de parasitémie détectable. L'anémie palustre sera discutée dans le chapitre qui suit<sup>67</sup>.

Une autre étude encore, s'est déroulée dans une région à forte endémicité avec transmission per-annuelle avec des pluies durant toute l'année mais une prédominance des précipitations de novembre à avril, dans un centre de santé rural. Tous les patients diagnostiqués comme cas de paludisme par le personnel infirmier du centre de santé ont été inclus dans l'étude (Genton et al. 1994). Les différents symptômes et signes ont été analysés dans leur capacité à prédire la présence

---

<sup>67</sup> Ici encore on se trouve en présence d'un élément (l'anémie grave) qui, associé à la densité parasitaire et au degré de fièvre pourrait constituer la base d'un diagnostic robuste des cas, et ce, y compris en saison sèche, comme précédemment abordé par Bouvier et al (1997).

de parasites dans le sang périphérique. Dans une deuxième analyse ces signes et symptômes ont été confrontés à la fonction continue du logarithme de la parasitémie, puis enfin à une parasitémie dépassant 10 000 p/μl. On cherchait ainsi à dégager des prédicteurs négatifs de paludisme, afin de trouver un outil clinique qui permette d'indiquer les cas où, en présence d'une histoire de fièvre, un autre traitement ajouté à l'antipaludique de base était indiqué. Les auteurs concluent qu'aucun signe n'est assez sensible pour exclure de manière fiable un accès palustre. Néanmoins, chez les enfants, une splénomégalie prédisait de manière fiable la simple présence de parasite alors qu'une température >38°C représentait un bon indicateur d'une parasitémie > 10 000 p/μl.

On constate donc que non seulement la clinique varie selon les régions étudiées, mais encore que la disponibilité et le pouvoir d'achat des médicaments orientent la recherche d'une manière différente selon les pays.

En Tanzanie dans une région holoendémique à transmission per-annuelle avec un pic de transmission à la fin de la saison des pluies (de mars à mai) dans une population d'enfants de moins de 9 ans consultant dans un centre de santé on a étudié le diagnostic d'accès palustre posé par l'aide médical, celui du pédiatre comparés à la présence de parasite au microscope (Rooth and Bjorkman 1992). Les cas de paludisme ont été définis par une fièvre axillaire > 37.5°C sans origine évidente confirmée au microscope. Les auteurs concluent qu'une anamnèse de fièvre précisant son caractère intermittent permet de rendre le diagnostic de paludisme clinique plus spécifique. Les auteurs affirment qu'un seuil de 400 p/μl peut être utilisé, dans la région étudiée, comme élément diagnostique d'un accès de paludisme. Cette affirmation n'est pas fondée ni expliquée dans l'article. De plus, la plupart des auteurs définissent des seuils bien supérieurs, 400 p/μl représentant une valeur proche du seuil de sensibilité de l'examen hématologique ... (voir aussi le paragraphe suivant). Enfin, malgré la transmission per annuelle, les auteurs décrivent un pic de transmission ce qui a pu modifier le profil de la maladie en fonction des mois. Il aurait été intéressant d'investiguer cet aspect.

#### *Différences de sensibilité / spécificité selon le seuil choisi*

Un certain nombre d'études ont effectué le calcul des spécificités et sensibilité selon les seuils de densité parasitaire choisis comme « preuve » de l'origine palustre d'un accès. Chez Weber la sensibilité augmente et la spécificité ne change pas selon que la seule présence de parasite est utilisée comme seuil en lieu et place d'une parasitémie > 5000 p/μl. Chez Redd la sensibilité passe de 93% à 95% pour la présence de parasite vs un seuil de 5000 p/μl. Chez Genton, le coefficient de régression augmente avec l'adjonction (on ne sait pas si le modèle est additif ou multiplicatif) de chacun des signes et symptômes pour prédire une parasitémie >10 000 p/μl plutôt que la présence de parasite. La valeur prédictive positive de ces items diminue pour prédire une parasitémie élevée plutôt que la présence de parasites. Chez Muhe, les ORs augmentent lorsqu'un certain seuil de parasitémie est utilisé plutôt que la présence de parasite.

Ajoutons enfin l'opinion des tenants de seuils dépendant de l'âge par palliers successifs (Rogier et al. 1996) alors que la simple logique biologique et statistique verrait une variation de nature continue ou, au minimum, des palliers affectés d'une estimation de leur variabilité.

#### *Éléments cliniques utiles pour le diagnostic d'accès palustre*

Le manque de sensibilité des signes et symptômes de paludisme rend leur absence inutilisable pour exclure le diagnostic. Pour exclure un diagnostic d'accès palustre, sur le plan clinique on peut s'appuyer sur la présence de signes ou symptômes spécifiques d'autres maladies fébriles ou on peut se fier à un résultat négatif de l'examen para-clinique, sous réserve du manque de sensibilité du test

utilisé. A l'inverse, pour confirmer le diagnostic en zone endémique, la découverte hématologique de parasites chez un patient n'est d'aucune utilité, comme démontré dans les chapitres précédents, en raison de la proportion importante de parasitémies asymptomatiques. On doit relever qu'au vu du développement des nouveaux médicaments à base d'artémisine, plus chers, et des efforts récents réalisés dans le but d'améliorer les algorithmes cliniques des syndromes fébriles chez les enfants (Gwer et al. 2007), la recherche sur les algorithmes cliniques et plus précisément de signes et symptômes spécifiques de l'accès palustre ont trouvé un regain d'intérêt.

Toutefois, le problème majeur rencontré dans l'élaboration d'algorithmes cliniques du paludisme est principalement lié à la définition d'un accès palustre auquel on se réfère pour les évaluer. L'utilisation d'un diagnostic de référence erroné influence surtout la spécificité des éléments cliniques de l'algorithme.

La pâleur cutanée et la splénomégalie en présence de fièvre sont de bons prédicteurs positifs de parasitémie (Genton et al. 1994, Muhe et al. 1999, Redd et al. 1996)<sup>68</sup>(Prybylski et al. 1999, Weber et al. 1997)<sup>69</sup>. La recherche de la pâleur palmaire en présence d'une histoire de fièvre permet de rendre le diagnostic de paludisme clinique plus spécifique, mais surtout recherche un signe clinique d'une des formes graves de paludisme responsable de la plus grande part de la mortalité palustre dans les zones de forte endémie. Bon nombre d'auteurs s'opposent au fait d'introduire des diagnostics cliniques plus spécifiques soulevant l'argument de la perte obligatoire de la sensibilité ce qui mettrait les enfants dont le diagnostic est faussement négatif à risque de décéder. A nouveau, il faudrait savoir ce que représente l'infection palustre retrouvée chez un enfant fébrile en zone d'endémie. On peut émettre l'hypothèse qu'en zone d'endémie, le risque de développer un paludisme grave en présence de signes cliniques d'anémie et de fièvre est plus important que le risque de développer un paludisme grave chez un enfant présentant des hématozoaires à l'examen hématologique associés à la fièvre. Cette hypothèse est d'ailleurs confirmée, du moins en saison sèche, par la mesure de facteurs prédicteurs de fièvre durant un suivi longitudinal où l'hématocrite en-dessous de 30% était le meilleur prédicteur de fièvre (Bouvier et al. 1997).

D'autres signes et symptômes ont un lien avec la densité parasitaire plus ou moins élevée, mais sont retrouvés de manière moins constante. Chez Rooth et Bjorkman (Rooth and Bjorkman 1992) une fièvre intermittente prédit la présence de parasites, relation qui n'est pas retrouvée dans une autre étude (Weber et al. 1997). Chez Weber les tremblements (*shaking*) prédisent de manière valable l'origine palustre des signes observés. Dans l'étude de Gomes l'histoire de fièvre suivie d'un paroxysme se manifestant par de la transpiration ou une rigidité (*rigor*) ou des convulsions, étaient de bons prédicteurs chez les enfants en-dessous de 10 ans (Gomes et al. 1994).

Olaleye retrouve un algorithme à neuf termes, que les auteurs prétendent facilement utilisable par les agents de santé : la somnolence, capacité de s'alimenter diminuée, frissons, sensation de chaud, absence de toux, pas de toux entendue durant la consultation, absence de rash, fréquence respiratoire augmentée, pâleur cutanée, splénomégalie, au moyen duquel l'accès palustre est diagnostiqué avec une sensibilité de 89% et une spécificité de 61% (Olaleye et al. 1998). L'anémie clinique définie comme la présence d'une pâleur conjonctivale, symptôme tout à fait non spécifique en général, montre, dans les zones endémiques, une bonne spécificité pour le paludisme ainsi que la présence d'une splénomégalie ou d'une hépatomégalie ou de nausée (Luxemburger et al. 1998). Cependant, compte tenu du manque de sensibilité de l'examen clinique d'anémie, ce signe est plutôt rarement retrouvé est donc peu utile dans la pratique.

---

<sup>68</sup> Chez Genton les meilleurs prédicteurs d'une parasitémie détectable est une rate palpable et ce uniquement chez les patients de moins de 20 ans (enfants), et en l'absence de toux.

<sup>69</sup> L'ajout de ces 2 éléments cliniques à la présence de fièvre augmente la spécificité sans diminuer la sensibilité de manière importante (sensibilité de 65% et spécificité de 81% en saison sèche et 69% et 80% respectivement en saison humide), comparé à la définition de l'IMCI dont la sensibilité est de 71% et la spécificité de 56%

Dans les régions où les infections des voies aériennes sont fréquente, l'absence de toux est un bon élément discriminant pour le diagnostic d'accès palustre (Chandramohan et al. 2001).

Parmi les études n'ayant pas exclu les fièvres d'origine connues, certains signes et symptômes sont des prédicteurs négatifs, comme l'absence de toux ou des selles anormales (Muhe et al. 1999)<sup>70</sup>.

**On peut noter encore que l'évaluation clinique de la fièvre chez un enfant devient bonne uniquement pour des températures > 39°C (Weber et al. 1997)<sup>71</sup>. Ce point nous paraît spécialement important à relever vu le nombre d'études qui se basent sur des températures bien inférieures dans leurs définitions.** On peut relever aussi les analyses à plusieurs degrés de fièvre effectuées par A.-L. Moret (1989). (Anne-Lise Moret / Accès de fièvre et paludisme chez les enfants de 2-9 ans : une étude cas-témoin dans un dispensaire du Niger, Genève : [s.n.], 1989).

#### *Evaluation par tranches d'âge*

On peut tout d'abord relever que, dans l'étude de (Petersen et al. 1991), la seule association positive trouvée entre différents indicateurs et la présence observée d'hématozoaires étaient l'âge, la saison et le sexe à l'exclusion de tous les signes et symptômes relevés.

L'évaluation d'un algorithme doit prendre en compte les différentes tranches d'âges (Mwangi et al. 2005, Reyburn et al. 2005). En effet un diagnostic clinique se rapporte pratiquement toujours à une parasitémie détectable. Compte tenu du développement de l'immunité palustre, le risque d'être malade en présence d'une parasitémie donnée se modifie en fonction de l'âge. La probabilité qu'une fièvre soit d'origine palustre selon la tranche d'âge étudiée est donc considérable (Smith et al. 1998). D'autre part le profil de la maladie change également avec l'âge. Ainsi on observe une prédominance de l'anémie palustre parmi les jeunes enfants et une plus grande fréquence de la forme cérébrale de la maladie parmi les enfants plus âgés.

Pratiquement, on peut prendre en compte la tranche d'âge la plus à risque de développer un paludisme cérébral et donc d'en décéder comme paramètre pour décider de l'urgence à traiter spécifiquement un cas de fièvre (Abdalla et al. 1980). Ainsi, on constate que, dans une zone endémique, où plus de 80 % de la mortalité attribuable au paludisme touche les enfants de moins de 5 ans, seul 20% de la sulfadoxine-pyriméthamine vendue est administrée à ces derniers (Pagnoni et al. 1997).

#### **Création d'un arbre décisionnel**

Le personnel de santé devrait avoir en main un outil pour répondre aux questions suivantes : quelle est la probabilité que l'histoire de fièvre de cet enfant ou la fièvre mesurée soit due au paludisme et quelle est la probabilité d'évolution de cette fièvre vers un accès grave, potentiellement mortel ? Pour répondre à la première question, nous avons à disposition les éléments cliniques, propres au patient, para-cliniques, propres au parasite et au niveau de transmission et les paramètres écologiques, également le niveau de transmission et la saisonnalité. Comme discuté dans les chapitres précédents, étant donné l'importance des éléments écologiques, (force de transmission du paludisme et saisonnalité) et anamnestiques (âge, utilisation de moustiquaire imprégnée, fièvre mesurée et intensité de la fièvre dans leur influence sur la maladie palustre) ceux-ci doivent être pris en compte en priorité lors de l'élaboration d'un arbre décisionnel pour traiter les fièvres palustres. Pour répondre à la deuxième question, on trouvera principalement des éléments de réponse dans le niveau d'endémie et l'âge du patient.

---

<sup>70</sup> Dans cette étude l'association de fièvre avec un antécédent d'accès palustre, une absence de toux ou une pâleur cutanée avaient une sensibilité de 83% et une spécificité de 60% pour prédire la présence de parasite sur une goutte épaisse en saison des pluies et 75% et 60% le reste de l'année.

<sup>71</sup> Elle a été évaluée, pour une température >38°C, à 65% de sensibilité et 75% de spécificité lorsqu'elle est appréciée par le médecin et à 65% et 67% respectivement par l'agent de santé.

## ***Implications pour la pratique dans les centres de santé périphériques***

Actuellement, en l'absence de laboratoire, l'OMS préconise de traiter toute fièvre ou histoire de fièvre d'origine indéterminée comme étant une fièvre palustre, ce qui a pour conséquence un sur traitement important<sup>72</sup>. Cette attitude « généreuse » alors que de nombreux pays ont adopté les nouvelles combinaisons médicamenteuses comme traitement de première intention, n'est guère possible en raison du prix de ceux-ci, du profil des effets secondaires encore peu connu de bon nombre d'entre eux, et du développement de résistances médicamenteuses.

Dès lors le but est de limiter le nombre de traitements administrés en l'absence de maladie palustre (faux positifs), tout en minimisant le nombre de patients dont on manque le diagnostic de paludisme (faux négatifs). Une attitude intéressante a été celle développée grâce aux tests rapides. Comparée à l'attitude prévoyant de traiter toute histoire de fièvre, elle a permis en présence de tests négatifs, d'éviter une part importante de traitements.

Une autre stratégie consiste à différencier le diagnostic et le traitement selon les tranches d'âges, ainsi que la prise en compte de la saisonnalité, de la force de transmission du parasite.

### ***Opposition d'une approche par « risque relatif » et « sensibilité / spécificité »***

#### *Modèle expérimental*

Exposition —→ Infection —→ Détection du Parasite —→ Maladie

Une démarche consiste à définir à priori un cas de paludisme par une histoire de fièvre et la présence de parasite comme le « gold standard ». Afin de valider un diagnostic clinique on l'oppose à posteriori à ce gold standard.

Toutes les études citées ci-après considèrent la parasitémie comme le résultat, le « end-point » (Chandramohan et al. 2001, Muhe et al. 1999, Olaleye et al. 1998, Weber et al. 1997) (Rooth and Bjorkman 1992). Dans cette démarche on calcule des sensibilités et des spécificités par rapport au « diagnostic de paludisme »<sup>73</sup>. Rappelons tout de même que la mise en évidence d'hématozoaires en

<sup>72</sup> Dans l'étude de Prybilski, au Pakistan, une consultation tenue par 1 médecin montre que sur les 1574 patients ayant eu un diagnostic clinique d'accès simple, 1127 ont un examen hématologique négatif.

<sup>73</sup> On peut relever qu'un certain nombre d'études partant d'un modèle « déterministe » décrit ci-dessus mesurent des « odds ratio » des signes et symptômes en définissant le paludisme par la présence de parasite ou un seuil de parasitémie dépassant 10 000 p/μl (Muhe et al. 1999; Weber et al. 1997), Dans l'étude de Weber on mesure l'odds ratio des signes et symptômes pour une parasitémie détectable et pour le paludisme clinique défini comme une histoire de fièvre ou une fièvre mesurée et une parasitémie détectable. Chez Muhe, l'odds ratio pour les signes et symptômes pris un à un est évalué, partant d'une définition d'un cas de paludisme par la détection par la microscopie du parasite parmi une population présentant une fièvre mesurée ou une histoire de fièvre, considérant l'infection palustre comme étant le diagnostic de paludisme. Alors que chez Rougemont et al, où il s'agit d'une étude cas-témoins, on mesure l'odds ratio d'être positif ou non chez les cas et les témoins pour chacune des caractéristiques de la fièvre, ce qui en fait revient au même pour le calcul, puisque les mesures de cotes dans une étude rétrospective ou une étude cas-témoins sont les mêmes. Toutefois on note une différence fondamentale d'attribution dans les cases 2x2. Dans le premier cas, la parasitémie est considérée comme étant la maladie alors que dans la seconde elle est considérée comme l'exposition et la maladie comme la fièvre et ses caractéristiques. D'autre part, chez Muhe, la population étudiée sont les patients avec une histoire de fièvre ou une fièvre mesurée, que l'on compare aux patients non-parasitémiés, alors que dans l'étude cas-témoin il y a les fébriles (cas) que l'on oppose aux témoins (les non-fébriles).

“Relative risks of fever for those with vs those without parasitaemia were estimated for each fever subgroup under the assumptions of the model; we multiplied the baseline relative risk by the product of the multiplicative factors (also termed "relative risks") estimated in table 11 for each criterion. A fever of unclear origin was estimated to have a

présence d'une fièvre en zone d'endémie ne peut être considérée comme un *gold standard* pour le paludisme maladie, pour les raisons évoquées dans les chapitres précédents<sup>74</sup>.

La démarche doit être par conséquent définie en d'autres termes. Recueillir les données les plus pertinentes pour obtenir des indicateurs composés capables d'approcher une plus grande *probabilité de causalité* entre ces deux éléments. Compte tenu d'un des autres fondements, l'extrême polymorphisme des signes, symptômes et indicateurs de l'infection plasmodiale et de la maladie palustre, ainsi que la variabilité saisonnière et géographique de la présentation des cas, toute approche de la relation entre l'un et l'autre reste, par nature, *probabiliste*.

On doit donc considérer la présence de parasite ou la parasitémie comme une « exposition » qui dans une certaine proportion des cas peut être à l'origine d'une fièvre présentant certaines caractéristiques (« effet »). Selon cette démarche on mesure le risque d'avoir de la fièvre accompagnée ou non d'autres éléments cliniques en présence ou non de parasites. On part donc de l'« exposition », représentée par l'infection plasmodiale pour aboutir à l'« effet », la maladie, le plus souvent définie par la fièvre et ses caractéristiques quantitatives et qualitatives, en partant du principe qu'elle est un élément cardinal pour un possible diagnostic de paludisme. La problématique est donc reformulée par la question suivante : quelle est la probabilité qu'un épisode fébrile donné soit causé par l'infection plasmodiale (on dit souvent « soit d'origine palustre ») ?

Il s'agit ensuite de déterminer, selon l'expérience clinique, les caractéristiques les plus probables d'une fièvre d'origine palustre. Pour ce faire, on constitue des groupes de sujets fébriles avec ou sans les autres symptômes et signes retenus. Dans cette démarche il n'y a nécessité de prédéfinir un cas. On apparie (selon l'âge, le sexe et autres variables pertinentes) un sujet fébrile à un (ou plusieurs) sujet(s) non fébrile(s), et on mesure les risques relatifs (OR) de fièvre selon a) que le patient est parasité ou non ou b) en fonction de la densité parasitaire prise comme une fonction continue. La proportion de parasitémies détectables ou la classe de densité parasitaire déterminera l'OR (le risque relatif) pour chacun des groupes que la fièvre soit « d'origine palustre ».

Cette affirmation repose sur l'observation qu'au niveau de la population, le risque de développer une fièvre est fonction de la parasitémie. Les risques mesurés sont donc valables au niveau populationnel mais ne peuvent pas être appliqués au niveau individuel ce qui nous contraint à définir ces groupes. En zone d'endémie, la microscopie n'est pas une méthode appropriée pour le diagnostic individuel de maladie palustre. Comme discuté dans le chapitre correspondant, le développement de l'immunité palustre rend le lien entre la parasitémie et le risque de développer une fièvre fortement variable au niveau interindividuel et dépendant de son exposition dans le passé, donc principalement du niveau d'endémie, de la saisonnalité et de l'âge. De plus, la variabilité intra-individuelle d'heure en heure de la parasitémie est un autre facteur déterminant ne permettant pas de passer d'une approche populationnelle à une approche individuelle<sup>75</sup>. La détermination de ces groupes selon un degré de risque de paludisme clinique est donc la seule

---

relative risk 4-9 times higher than that of a fever with a clear cause, and the multiplicative factors associated with fever duration under 3 days and high intensity fever were 3-11 and 39, respectively. Thus, the relative risk for a fever that met all three criteria was estimated to be  $\exp(-0.79) \times 4.9 \times 3.1 \times 3.9 = 27.5$  after correction for rounding error."

<sup>74</sup> En effet comme déjà évoqué ci-dessus, l'existence dans les zones endémiques d'indices plasmodiques dépassant 75% en zones holo-endémiques et de sujets sains porteurs de hautes densités parasitaires, de la variabilité importante de la parasitémie intra-individuelle ont pour résultat que cette relation ne peut être exprimée qu'en termes de probabilités d'être d'origine palustre.

<sup>75</sup> Dans cette perspective on peut relever un bon nombre d'études qui se sont référés à une étude épidémiologique, qui a estimé la sensibilité et une spécificité d'un diagnostic défini par la fièvre mesurée > 38°C axillaire et une parasitémie > 5000 p/microlitre à 80 % (Smith et al. 1994), pour estimer le risque de fièvre individuel attribuable au paludisme (McGuinness 1998a). Toutefois, cette définition est-elle valable aussi bien au niveau populationnel qu'au niveau individuel ?

alternative pour permettre de stratifier le traitement du paludisme et pour doter les hôpitaux d'une aide décisionnelle devant les états fébriles d'origine indéterminée.

La classification selon des éléments cliniques représente une partie de l'attribution au paludisme des fièvres étudiées, les paramètres tout aussi déterminants à une autre échelle doivent être également pris en compte, des critères d'environnement, la saison, la provenance de l'individu, l'âge du patient, l'utilisation de moyens de protection contre les moustiques ou de traitement récent.

Les faiblesses de cette approche sont que d'une part on s'appuie sur la présence de parasites à la microscopie pour définir l'exposition, ce qui, à la lumière du gain important en sensibilité de techniques comme la PCR, revient à prendre en compte un seuil de densité parasitaire dont les désavantages ont été discutés au chapitre correspondant ; d'autre part, le fait de formuler l'accès palustre en termes d'*odds ratio* ne permet pas de quantification et donc de mesure de morbidité. En outre, déterminer le cas par une température dépassant un certain seuil, étant donné les imprécisions liées sa mesure ainsi qu'à ses variations physiologiques, mène à une certaine erreur lors de l'attribution des patients aux cas ou aux témoins. Pour cette raison, Rougemont *et al.* (1991) analysent les différents groupes selon différentes intensités de température. Par ailleurs, la formation de groupes dont le risque est défini par la présence de fièvre accompagné de certains éléments cliniques, affaiblit de manière importante les mesures statistiques et nécessite donc de grands collectifs afin d'être significatif. Finalement, ce modèle ne permet pas le calcul de la valeur prédictive, de la sensibilité et de la spécificité. Toutefois il faut savoir ce qu'un diagnostic de référence signifie, sachant que l'accès de paludisme simple comme tel n'existe pas et représente probablement un continuum entre l'accès fébrile et l'accès compliqué avec une intensité différente en fonction de l'état immunitaire du patient.

En résumé, dans la première approche, le diagnostic est défini par la présence de parasites que l'on confronte à un diagnostic clinique tout en admettant que cette référence est empreinte d'une certaine erreur<sup>76</sup>. Ce diagnostic de référence imprécis est, par la suite, utilisé pour mesurer des valeurs aussi précises que la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives (Abdullah et al. 2007). Dans la seconde démarche, la *maladie* est définie par la présence de fièvre accompagnée ou non de certaines caractéristiques, et le parasite représente l'*exposition*<sup>77</sup>. L'absence de diagnostic dans cette seconde démarche conduit à des calculs de risques relatifs de fièvre palustre selon le degré d'infection de chaque groupe défini par le type de fièvre, risque précisé par le contexte clinique, l'âge du patient, un cadre géographique, la saison. On retrouve un certain nombre d'études procédant de la même manière (Cox et al. 1994, Petersen et al. 1991) (Trape et al. 1985) (Rougemont et al. 1991). Toutefois la plupart de ces auteurs n'expriment pas la relation entre les signes et symptômes cliniques en termes de risques relatifs, mais emploient le terme de prédicteur plus ou moins critiquables.

---

<sup>76</sup> Pour un seuil de 5000 p/μl en présence d'une fièvre dépassant 38°C la sensibilité et la spécificité sont estimés à 80% dans une étude réalisée en zone endémique.

<sup>77</sup> Cette démarche a consisté à estimer la fraction attribuable au paludisme en comparant la prévalence de parasite dans la population fébrile avec la population témoin. (Rougemont et al.1991)(Greenwood et al.1987). Cette méthode pose un problème d'imprécision dans les zones d'hyperendémies où la proportion d'individus parasitémiques est faible. De plus d'autres pathologies comme la rougeole et l'influenza semblent supprimer la parasitémie (Marsh et al. 1995) amenant à des biais dans l'utilisation de cette méthode, car la fonction de la fièvre par rapport à la parasitémie est non-monotone. Par la suite pour pallier à cette imprécision on a réalisé une régression logistique afin de faire de la relation fièvre et parasitémie une fonction continue. On considère le logarithme de la probabilité qu'une observation  $i$  qui a une parasitémie  $x$  soit un cas, défini comme un patient fébrile. Ce risque de fièvre permet de calculer la proportion de fièvres attribuables au paludisme. Ce résultat permet à son tour d'aboutir à une incidence d'accès palustre, ce qui permet de réaliser une courbe ROC afin de déterminer la sensibilité et la spécificité d'une définition à différents seuils.

**Ces deux démarches, conceptuellement différentes, aboutissent à un calcul du risque relatif complètement différent, le premier définissant le cas par la présence de fièvre et le second par la présence de parasites.** L'accès palustre ne peut être défini par la présence de parasites dans le sang périphérique ni par un seuil de densité parasitaire en raison de la nature probabiliste du lien entre la parasitémie et une fièvre palustre ainsi que du continuum entre paludisme clinique, porteur asymptomatique et accès compliqué. C'est pourquoi en s'appuyant sur le lien existant entre la proportion de fièvre et la parasitémie, des groupes sont définis par la fièvre et ses caractéristiques, chez qui l'évaluation de la parasitémie détermine la probabilité qu'une fièvre observée dans un groupe donné soit d'origine palustre.

Enfin une autre démarche possible est d'observer un certain nombre de symptômes et signes pouvant être dus au paludisme et voir dans quelle mesure chacun d'entre eux associé à la fièvre est corrélé à la parasitémie prise comme une fonction continue et, dans le cas de variables continues, si l'intensité est également corrélée à la fonction de la parasitémie, comme on a pu le montrer pour la fièvre. L'étude de Prybilski au Pakistan procède de cette manière en évaluant le risque relatif de différents signes et symptômes pour des catégories de parasitémies définies, afin d'évaluer s'il y a une association avec la présence de parasite et s'il y a une relation dose-réponse (Prybilski et al. 1999)<sup>78</sup>.

---

<sup>78</sup> "The results, based on multivariable analysis, showed that a clinical diagnosis of malaria, a history of fever, rigors, headache, myalgia, elevated temperature, and a palpable spleen among children were all strongly associated with the presence and density of *P. falciparum* or *P. vivax* malaria in a monotonic dose-response fashion.

*Methods :*

To assess the relationship between *P. falciparum* parasite density and clinical signs and symptoms of malaria, individuals with *P. vivax* or mixed infections were excluded. In the same way, individuals with *P. falciparum* infection (either alone or mixed) were excluded when *P. vivax* parasitemia was evaluated. *Plasmodium falciparum*-only and *P. vivax*-only parasitemia densities were grouped into 4 strata: none (aparasitemic for both species), 1–999/ml, 1,000–4,999/ml, and 5,000/ml. The prevalence of malarial signs and symptoms within the parasite density strata was calculated. Multiple logistic regression modeling was used to estimate the associations between parasite density and various signs and symptoms of malaria. Age, village, and season were examined as effect modifiers and these potential confounders were controlled in the multivariable models. Parasitemia rates and densities did not vary significantly by gender; thus, this variable was not included in the regression models. For each sign and symptom examined, ORs and 95% CIs were computed for the 3 parasite density groups using the aparasitemic group as the reference category. A test for linear trend analysis was conducted by treating the parasitemia level dummy variables as a continuous score variable.

The malaria-attributable fraction (MAF)  $l$ , or the proportion of individual symptoms and signs attributable to either *P. falciparum* or *P. vivax* malaria in this clinical setting was estimated using a model-based extension of the classic methods described by Smith and others<sup>12</sup> which allowed for the control of potential confounding variables. This was done for the presence of individual symptoms and signs that were associated ( $P < 0.05$ ) with parasitemia in the adjusted models; the approach works well because of the observed monotonic relationship between parasite density and the symptoms/signs of malaria in this data set. The overall estimate of  $l$  ( $l = \frac{p(R-1)}{R}$ ) was calculated using only 2 categories (with/without parasitemia), where  $p$  is the proportion of parasitemic individuals who presented with the symptom or sign in question and  $R$  is the relative risk of the sign or symptom associated with the exposure. In this case,  $R$  is estimated by the adjusted OR of the symptom/sign in question for the parasitemic group (relative to the baseline aparasitemic group) derived from the fitted logistic regression model that simultaneously controls for potential confounding effects of village, age, and season.

Separate logistic regression models were also constructed to examine the parasite density-specific MAF  $l_j$  ( $l_j = \frac{p_j(R_j-1)}{R_j}$ ) associated with each of the 4 parasite density categories ( $j = 1, 2, 3, \text{ and } 4$ ), where  $R_j$  is the adjusted OR of the various symptoms/signs for the  $j$ th category, relative to the baseline category  $j = 1$ , which is based upon observations on aparasitemic patients, and  $p_j$  is the proportion of patients with the symptom or sign in question with parasites in the  $j$ th category. In addition, for symptoms and signs for which there was important effect modification by age, strata-specific MAFs (4 years, 4–12 years, > 13 years) were calculated using stratified multiple logistic regression models. These a priori age groups were the most appropriate to demonstrate differences in response to infection and also to maximize the number of observations within each category. Data analyses were performed using Epi-Info version 6.0 and SAS "release 6.11 software.

Dans cette étude, le cas de paludisme n'est pas défini, on évalue l'association entre les signes et symptômes et les différentes catégories de densités parasitaires.

Une autre démarche étudiée, dans une étude longitudinale, le risque de fièvre et observe dans quels sous-groupes définis par une constellation de signes et symptômes ou une tranche d'âge donnée, le risque de fièvre est augmenté (Bouvier et al. 1997).

## Autres manifestations de l'infection plasmodiale

### Le paludisme grave et compliqué

Les conséquences de l'infection palustre sont l'accès simple discuté ci-dessus, qui peut évoluer vers un accès grave et compliqué, en particulier paludisme cérébral ou vers une anémie palustre. Il faut tout particulièrement évoquer la conséquence du paludisme chez la femme enceinte et sa conséquence sur la morbidité et la mortalité des femmes et des nouveau-nés dont nous parlerons au chapitre suivant. Parmi les autres manifestations du paludisme grave signalons les déficiences organiques multiples (reins, foie, poumons) avec des signes de gravité telles que l'insuffisance rénale aigüe, l'hyper bilirubinémie, détresse respiratoire, œdème aigu du poumon, etc (Marsh et al. 1995).

A l'aide de l'exemple de l'accès palustre grave avec détresse respiratoire, on verra dans les paragraphes suivant la difficulté de circonscrire la maladie palustre parmi ces différentes manifestations. Les définitions cliniques du paludisme simple et compliqué seront probablement appelées, à l'avenir, à s'affiner davantage. Le paludisme avec altération de la conscience a été bien étudié dans le passé, ainsi que l'anémie palustre. En revanche, le paludisme avec détresse respiratoire comme indicateur d'un accès grave n'a pas été investigué très en profondeur. L'acidose est retrouvée dans un grand nombre de des cas de détresse respiratoire. C'est un indicateur de mauvais pronostic. Il s'agit le plus souvent d'une acidose lactique<sup>79</sup>. Il a été montré que chez les enfants gravement anémiés (Hb < 5g/dl), on n'obtient un effet bénéfique sur la mortalité que si l'on transfuse les patients présentant une détresse respiratoire (Lackritz et al. 1992). Dans les régions où la pneumonie est fréquente chez l'enfant notamment en Gambie ou au Malawi, le diagnostic différentiel avec la pneumonie est particulièrement difficile à établir. Les directives de l'OMS préconisent de traiter comme pneumonie tout enfant présentant une toux ou une dyspnée et tachypnée<sup>80</sup> ou des signes de tirage, avec l'adjonction d'un traitement antipaludique en cas de fièvre, ce qui se discute, du fait que toute pneumonie est, en principe, fébrile ...

Lors d'observations confrontant symptômes et signes cliniques de pneumonie à la recherche de *Plasmodium* et la radiographie, on constate qu'en saison humide, une plus grande proportion d'enfants satisfaisant les critères cliniques de pneumonie de l'OMS n'ont pas de pneumonie à la radiologie<sup>81</sup>(Muhe et al. 1999, Redd et al. 1992).

---

<sup>79</sup> On attribue sa production en premier lieu à un apport insuffisant d'oxygène aux tissus et ceci par le concours de plusieurs facteurs: d'abord l'anémie, ensuite le phénomène de séquestration dans les micros vaisseaux, et la diminution du volume circulant. Ce dernier facteur et l'anémie semblent être les 2 facteurs les plus importants, puisque la perfusion et la transfusion corrigent rapidement l'acidose. 3 éléments supplémentaires contribuent à la production ou à la non-destruction de l'acide lactique : le parasite lui-même produit de l'acide lactique, le corps réagit à l'accès palustre par le relargage des protéines de phase aiguë particulièrement élevé dans le paludisme, et la diminution du flux sanguin hépatique qui est le principal organe assimilant l'acide lactique,.

<sup>80</sup> >60/min chez les <2mois, >50/min chez les 2-11mois, >40/min chez les 12-59 mois

<sup>81</sup> Malheureusement, les données sur l'anémie manquent dans cette étude, il eut été intéressant de relever s'il y a une proportion d'anémiés plus grande parmi les enfants présentant des signes respiratoires sans signes radiologiques de pneumonie. L'incidence de la pneumonie ne semble pas varier entre les saisons, et le nombre d'enfants parasités n'est pas plus important parmi les enfants présentant les signes de pneumonie à la radiographie, ni de signes graves. Les symptômes et signes cliniques de la pneumonie varient avec la saison et le paludisme, alors qu'il ne semble pas y avoir d'influence du paludisme sur la pneumonie, ni de variation du nombre de pneumonie avec la saison.

## **L'anémie palustre**

### ***Définition***

L'anémie palustre sévère a été définie par l'OMS comme la présence d'une parasitémie  $>10\ 000\ p/\mu l$ , d'un hématocrite  $<15\%$  en l'absence d'anomalie au frottis périphérique type microcytose ou autre anomalie structurelle pouvant faire suspecter une autre origine de l'anémie. Bien que le frottis n'exclue pas forcément les causes non palustres de l'anémie, cette définition est très spécifique. Mais beaucoup d'anémies graves sans parasites détectables sont très probablement dues au *Plasmodium* (Bouvier et al. 1997). De nombreux auteurs ont donc redéfini l'anémie palustre comme étant l'association d'une parasitémie détectable et d'un hématocrite  $<30\%$ . On considère l'anémie palustre comme sévère en présence d'un hématocrite  $<15\%$  et une parasitémie détectable (Lindblade et al. 2001, Lindblade et al. 2000). L'anémie palustre sévère a été définie par une hémoglobine  $<50\ g/l$  et remplissant les critères suivants: parasitémie détectable, pas d'évidence de déficit hématinique (fer plasmatique  $>10\ \mu mol/l$ ) ou d'hémoglobinopathie, et une augmentation de l'hémoglobine  $>10\ g/l$  par semaine en réponse à l'administration d'un antipaludique. Enfin l'anémie palustre probable a été définie comme étant une hémoglobine  $<50\ g/l$  et présence de parasitémie périphérique sans remplir les critères mentionnés ci-dessus (Greenwood et al. 1987).

Notons encore que la façon de mesurer le degré d'anémie devrait tenir compte de son origine probable, à savoir a) hémorragique et/ou hémolytique, b) ferriprive, c) nutritionnelle. L'anémie palustre, en l'absence de composante ferriprive et/ou nutritionnelle bénéficie surtout de la mesure de l'hématocrite. Cependant, la coutume prédominante étant celle de la mesure de l'hémoglobine, de nombreuses études ci-après y font uniquement référence. Le manque de standardisation dans les comparaisons est évident, mais c'est la meilleure approximation dont nous disposons. Nous l'utiliserons donc faute de mieux.

### ***Relation entre paludisme et anémie***

Au cours d'un suivi longitudinal mensuel des parasitémies et de l'hémoglobine réalisé chez des nouveau-nés au Kenya l'association la plus forte est celle de l'hémoglobine et de la moyenne géométrique des densités parasitaires mesurée durant les 90 derniers jours. L'histoire de la parasitémie détermine plus précisément le lien parasitémie / anémie plutôt que la valeur ponctuelle de la densité parasitaire (McElroy et al. 2000). Dans la même étude lorsque les différentes catégories de parasitémies sont comparées avec l'hémoglobine (Bloland et al. 1999), la relation n'est pas linéaire. En effet on retrouve une différence significative entre les frottis négatifs et une densité  $<999\ p/\mu l$  ainsi qu'entre les densités  $>999\ p/\mu l$  et les densités plus élevées cette dernière différence étant surtout marquée chez les enfants en-dessous de 18 mois ; on ne la retrouve pas avec des densités parasitaires plus élevées. La différence des valeurs de l'hémoglobine entre les sujets clairement parasités et les sujets ayant une basse densité parasitaire soulève l'hypothèse d'une influence possible d'une parasitémie chronique et faible qui serait à l'origine des anémies observées chez ces sujets (Kurtzhals et al. 1999). L'influence négative sur l'hémoglobine du traitement par la chloroquine de sujets présentant une résistance à ce médicament pourrait s'expliquer par la persistance après traitement d'une parasitémie résiduelle comme nous l'avons vu au paragraphe traitant de l'haptoglobine (Ekvall et al. 2001, Ekvall et al. 1998) (Price et al. 2001).

## ***Anémie chez les femmes enceintes***

Les femmes enceintes présentent une susceptibilité plus importante au paludisme avec une incidence plus grande d'infection et d'accès palustres, avec pour effet principaux l'anémie, l'atteinte placentaire dont on pense qu'elle pourrait être due, dans le cas de *P. falciparum*, à une blocage de la circulation capillaire par des *clusters* d'hématies parasitées (comme cela semble être le cas au niveau du cerveau pour tout accès dit grave et compliqué). Des atteintes ischémiques du placenta ont pour conséquence une augmentation des bas poids de naissance due à la prématurité et au retard de croissance intra-utérin, effets plus marqués chez les primigravides (Steketee et al. 2001)<sup>82</sup>. Le petit poids de naissance est la cause d'une forte augmentation de la mortalité des enfants, en particulier néonatale, mais le paludisme maternel contribue également de manière conséquente à la morbidité et à la mortalité maternelle par l'hypoglycémie et l'anémie, surtout chez les primigravides.

## ***Autres causes d'anémie***

Chez les nourrissons, le paludisme et le déficit en fer sont les causes les plus fréquentes d'anémie comme en témoigne un lien significatif entre la microcytose et la présence d'anémie dans la tranche d'âge des 6 à 12 mois (Cornet et al. 1998), alors que chez les > 3ans on retrouve plus fréquemment la malnutrition et une infection par les ankylostomes, ainsi que d'autres infections aiguës et chroniques (Alonso et al. 1994). Chez les nourrissons, la contribution du paludisme à l'anémie est estimée à 60% dans un essai contrôlé et randomisé de chimio-prophylaxie antipaludique et de fer, et le déficit en fer pour 30%, dans une zone hyperendémique en Tanzanie. Il faut relever par ailleurs que durant cet essai thérapeutique aucune influence du supplément en fer sur l'incidence des accès palustres n'a été retrouvée.

Sur 100 patients étudiés, dans 24 cas on a posé un diagnostic d'anémie palustre, 22 une anémie palustre probable, 17 une anémie ferriprive, 10 une anémie falciforme, dans 5 cas il s'agissait de formes mixtes et 24 indéterminés, parmi lesquelles un certain nombre pourrait être des sujets infectés à des taux indétectables par la microscopie et représenter la population semi-immune qui se trouve en phase de résolution de la maladie (Rougemont et al. 1988).

## ***Physiopathologie de l'anémie palustre***

On distingue classiquement les phénomènes menant à l'anémie lors d'accès aigus et l'anémie en présence d'un paludisme appelé chronique (Abdalla et al. 1980). L'anémie résulte d'une destruction augmentée des globules rouges et d'une diminution de leur production. L'hémolyse est le mécanisme prédominant chez les sujets non-immuns lors d'accès palustres alors que la dysérythropoïèse est responsable des cas d'accès répétés. Lors d'un accès aigu, l'anémie s'installe 48 heures après le début de la fièvre. Cette première baisse de l'hémoglobine résulte d'une hémolyse intra et extravasculaire avec une prédominance du phénomène extravasculaire<sup>83</sup> (Ekvall et al. 2001).

---

<sup>82</sup> Le risque attribuable dans la population du paludisme a été estimé pour l'anémie chez la femme enceinte entre 3-15%, le bas poids de naissance entre 8-14%, bas poids de naissance du à la prématurité entre 8-36%, bas poids de naissance du au retard de croissance intra-utérin entre 13-70%, et la mortalité infantile entre 3-8%.

<sup>83</sup> Parmi 20 enfants entre 6 mois et 4 ans admis pour un accès palustre simple 15 avaient une haptoglobine basse aussi bien à l'admission que durant le suivi, et les 5 autres avaient une haptoglobine initialement élevée qui s'est négativée durant le suivi de 72 heures. Cette chute de l'haptoglobine est le signe d'une hémolyse intravasculaire. Mais les concentrations faibles d'hémoglobine plasmatique et d'hémoglobinurie reflète de l'hémolyse intra-vasculaire mesurée chez 20 enfants pendant un suivi de 72 heures après leur admission parlent en faveur d'une origine principalement extra-

Une étude hospitalière chez tous les enfants admis durant une certaine période, portant sur le risque de mortalité confronté à un certain nombre de critères cliniques et para-cliniques montre un risque relatif de 30.7 en présence d'hémoglobinurie (Marsh et al. 1995).

Il faut relever qu'en phase aiguë l'hémolyse des érythrocytes infectés est accompagnée d'une destruction de globules rouges non-infectés possiblement dû à une réaction immune ou à un dommage par les radicaux libres (Phillips and Pasvol 1992). L'élimination des hématies non-parasitées semble contribuer pour la plus grande part à la chute de l'hémoglobine lors d'accès aigus. L'augmentation de la rigidité de la paroi cellulaire de l'érythrocyte semble jouer un rôle important dans l'érythrophagocytose. Dans une étude hospitalière sur des adultes souffrant d'un accès palustre grave, la diminution de la plasticité des hématies évaluée par un laser optique prédisait la chute de l'hémoglobine (Dondorp et al. 1999).

Après le traitement, l'hémoglobine chute encore durant les 4-5 premiers jours et souvent durant encore 2 semaines après l'éradication apparente du *Plasmodium* sanguin. La sévérité de l'anémie est corrélée avec la densité parasitaire. La destruction des hématies parasitées est le mécanisme le plus probablement responsable de cette première chute de l'hémoglobine. La persistance de la chute de l'hémoglobine malgré la disparition des parasites serait due à la phagocytose des hématies parasitées et non-parasitées par hyper activation des macrophages du système réticulo-histiocytaire en réponse à l'accès palustre. Ceux-ci phagocytent les hématies dont la membrane est anormalement rigide, expliquant en partie le manque de corrélation entre le taux d'anémie et la parasitémie. Cette observation soutient l'attitude consistant à définir l'anémie palustre sans examen hématologique direct, en zone d'endémie toute anémie qui n'a pas d'autre origine manifeste. Enfin, l'hypertrophie de la rate impliquée dans l'élimination des hématies parasitées est un troisième élément dans le développement de l'anémie dans la phase aiguë.

La contribution de l'hémolyse auto-immune est controversée. On retrouve chez les sujets présentant une anémie palustre sévère une proportion plus importante de tests de Coombs directs à l'anti globuline positif (DAT) ainsi qu'un lien quantitatif entre le DAT et la gravité de l'anémie (Delley et al. 2000). Mais ces résultats ne sont pas retrouvés dans toutes les études, et d'autres concluent que le DAT est un test peu spécifique et n'est pas corrélé à la gravité ou la persistance de l'anémie et la réticulocytose.

Compte tenu de la difficulté à déterminer la part attribuable de l'anémie à des accès répétés ou à une parasitémie basse asymptomatique, et que probablement elle est imputable à ces deux formes à la fois dans une proportion qui reste à déterminer, il est difficile de départager clairement la physiopathologie de l'anémie dans ces deux entités. Néanmoins, la comparaison du profil hématologique de ponction biopsie de moelle de sujets atteints d'un accès aigu vs sujets avec une parasitémie basse et une histoire de fièvre de longue durée révèle dans le deuxième groupe, une érythropoïèse dysplasique, et une hypoplasie transitoire de la moelle, ainsi qu'une mauvaise utilisation du fer, et en périphérie une destruction immune des hématies et un hypersplénisme. L'hypoplasie érythroïde serait causée par une diminution de la réponse à l'EPO, qui a pour conséquence un retard dans la montée des réticulocytes. Probablement que la production de l'EPO est également diminuée, elle-même causée par la production de médiateurs inflammatoires tels que le TNF. La dysérythropoïèse se rencontre dans les cas d'infections répétées, le frottis de moelle démontrant une hyperplasie érythroïde avec anomalies structurelles. La ponction de moelle réalisée chez 100 enfants ne montre pas de différences dans la nature et le degré de dysérythropoïèse dans les différents groupes étiologiques d'anémie, bien qu'on retrouve parmi les sujets avec anémie

---

vasculaire d'hémolyse. Les chutes d'hémoglobine les plus importantes sont survenues chez les sujets présentant une hémoglobinurie, ce qui pourrait avoir une implication clinique quant à la nécessité de transfuser un patient. Une chute brutale de l'hémoglobine étant plus délétère dans l'apport d'oxygène tissulaire qu'une baisse progressive. La détection d'hémoglobinurie serait donc un argument pour transfuser les patients présentant une anémie sévère.

palustre, une plus grande étendue de dysérythroïèse, et les caractéristiques de la dysérythroïèse retrouvée dans cette catégorie étaient similaires aux enfants avec déficit en fer. Il est possible également que des phénomènes médiés par des anticorps et le relargage de réactifs oxydants occasionnés par la phagocytose de pigments malariques soient responsables de la persistance d'une anémie après disparition de parasitémie.

### ***Groupes atteints par l'anémie palustre***

Les jeunes enfants en-dessous de 5 ans et les femmes enceintes sont les deux populations les plus touchées par l'anémie palustre. La proportion d'anémie palustre sévère augmente avec l'intensité de transmission du paludisme, alors que le paludisme cérébral suit l'évolution inverse, il est donc plus fréquent en zone de méso ou d'hypo-endémie. L'âge moyen auquel on observe le plus d'anémie grave se situe vers 12 mois. Le pic d'incidence se situe selon la définition de l'anémie palustre de l'OMS chez les nourrissons entre 7 et 12 mois. Par contre en se basant sur une définition plus large de l'anémie palustre sévère (l'hémoglobine < 5g/dl et une parasitémie détectable), la tranche d'âge des 25 à 30 mois a une incidence équivalente aux enfants entre 7 et 12 mois.

Dans les zones à transmission intense et per-annuelle l'anémie palustre (Ht < 25%) touche les nourrissons. On observe une forte corrélation entre la parasitémie cumulée lors de suivis longitudinaux et l'hématocrite chez les nourrissons, alors que les enfants plus âgés qui restent parasitémiés corrigent leur hématocrite et atteignent des valeurs similaires aux enfants non parasités.

### ***Facteurs de risques pour l'anémie palustre***

La répartition par tranche d'âge du type de présentation clinique du paludisme reste grandement inexpliquée. Il a été postulé que la quantité relative moindre de globules rouges chez les nourrissons, des changements intrinsèques lors de la croissance ainsi que la capacité encore insuffisante de production de certains facteurs inflammatoires (IL-10) pourraient expliquer pourquoi l'âge est le prédicteur le plus puissant pour l'anémie. Une autre explication consiste à supposer que les différentes présentations de la maladie nécessitent un certain terrain physiologique, donc l'expression de récepteurs vasculaires différents selon l'âge, mais pour l'instant aucune preuve ne vient confirmer ces suppositions.

Le lien entre infection maternelle et le faible poids de naissance, la prématurité et la mortalité infantile a été bien démontré (Bouvier et al. 1997). Le lien entre infection maternelle et anémie chez le nourrisson a pu également être établi, et ce indépendamment du bas poids de naissance et de la prématurité.

L'enfant né d'une mère présentant une parasitémie détectable lors de l'accouchement a une hémoglobine en moyenne plus basse. Un lien a été établi entre l'hémoglobine du nourrisson et l'infection placentaire<sup>84</sup>. Cette observation montre que la prophylaxie chez les femmes enceintes diminue non-seulement la proportion de faible poids de naissance et de prématurité mais aussi celle des nourrissons anémiés. Chez des nouveau-nés suivis durant 3 ans, le risque relatif d'être anémié chez les moins de 6 mois dont le placenta contenait des trophozoïtes a été estimé à 3.6 (Cornet et al.

---

<sup>84</sup> Dans le cadre d'un essai de prophylaxie anti-palustre chez des femmes enceintes, et le suivi longitudinal de 252 enfants, on retrouve une forte corrélation entre le paludisme placentaire et l'anémie (<25% d'hématocrite) chez le nourrisson, indépendamment du bas poids de naissance et de la prématurité qui sont également des facteurs de risques de l'anémie

1998). La présence de parasites lors d'un premier frottis réalisé à 2 mois de vie augmente aussi le risque d'anémie alors que l'histoire de fièvre n'influence pas ce risque, observation qui confirme l'hypothèse d'accès palustres afebriles chez les nourrissons. Le lien entre présence de parasite et anémie est le plus fort chez les nouveau-nés, et va en diminuant avec l'âge croissant. On ne trouve pas de lien clair entre la densité parasitaire et le degré d'anémie, rejoignant ainsi les liens entre parasitémie et anémie décrits ci-dessus dans l'étude de Mc Elroy (Kahigwa et al. 2002). Les enfants > 3 mois avec un poids plus élevé (>90<sup>ème</sup> percentile) ont également une hémoglobine plus élevée.

### ***Le pourquoi des infections chroniques ?***

La survenue de pics lors de mesures successives de la parasitémie, particulièrement lors d'infections chroniques peut être en partie expliquée par la variation antigénique, qu'on retrouve aussi bien pour les mérozoïtes que pour les trophozoïtes âgés. Cette variation antigénique concerne trois familles d'antigènes, la famille var, rosettin/rif, et Pf60. La recombinaison génétique dans un moustique infecté par plusieurs souches est l'autre moyen pour le parasite de modifier son matériel génétique. Les deux premiers codent pour des protéines de surface exprimées à la surface des érythrocytes infectés, dont le pfEMP1 qui est impliqué dans les phénomènes de formation de rosettes et d'adhérence, la fonction de la dernière famille n'est pas clair, elle semble impliquée dans l'attachement du parasite à la membrane du globule rouge lors de l'invasion de celui-ci par le parasite. Cette variation antigénique permet au parasite d'échapper à l'immunité de l'hôte et pourrait en partie expliquer la persistance de certaines infections palustres.

### ***Particularités des groupes anémiés***

L'observation d'une plus grande incidence de fièvre (Delley, Véronique. Approche épidémiologique du paludisme en zone d'endémie. - Genève : [s.n.], 1998. - 107 f. : ill. ; 30 cm. Th. biol. Genève, 1998 ; Sc. 2995.) et de fièvre avec présence de parasites (Cornet et al. 1998) chez les enfants anémiés atteste que cette population est plus à risque d'accès palustre que le reste de la population. Parmi les sujets admis à l'hôpital, ceux ayant une anémie sévère ont une mortalité intra et extra/post hospitalière plus grande que la population témoin.

Certaines études semblent montrer l'existence d'enfants atteints de manière chronique d'une anémie grave<sup>85</sup> (McElroy et al. 1999). Dans une étude hospitalière sur les enfants gravement anémiés, ceux présentant une hémoglobine <5 g/dl, avaient une anamnèse de transfusion dans 19% des cas contre 6% parmi les enfants avec une hémoglobine >5 g/dl. On pourrait en conclure qu'il existe une sous-population d'enfants chroniquement anémiés, ou encore que la transfusion sanguine seule sans traitement ferrique et antipaludique n'est qu'une mesure apportant un bénéfice à court terme.

Reste à savoir si le mécanisme prépondérant menant aux anémies palustres graves qui doivent être transfusées représente une destruction rapide et répétée d'érythrocytes ou s'il s'agit d'enfants chroniquement anémiés porteurs d'une susceptibilité particulière ou plus exposés aux parasites depuis leur naissance et/ou pendant la grossesse ?

### ***Valeur du diagnostic clinique de l'anémie***

En-dessous de 6g/dl, l'anémie est bien diagnostiquée par la pâleur palmaire et conjonctivale. Entre 6 et 8 g/dl, 1/3 des anémies sont diagnostiquées, la pâleur palmaire semble être un critère un peu

---

<sup>85</sup> Dans une étude longitudinale menée au Kenya portant sur 942 nouveaux-nés suivis durant 4 ans, on retrouve 152 épisodes d'anémies <5g/dl parmi 127 sujets lors de prélèvements mensuels pour l'hémoglobine et la parasitémie. Le nombre de sujets sévèrement anémiés lors de prélèvements successifs se trouverait aux alentours de 12%.

plus sensible que la pâleur conjonctivale (Weber et al. 1997). Autrement dit la pâleur palmaire et conjonctivale a une bonne spécificité et une sensibilité médiocre pour détecter l'anémie grave (Kalter et al. 1997). Une étude plus récente chez des enfants entre 6 et 36 mois, montre que l'observation d'une pâleur palmaire, conjonctivale ou de la langue, associé soit à une fièvre d'une durée de plus de 3 jours ou à une fréquence respiratoire supérieure à 55/min prédit une anémie sévère (hématocrite inférieure ou égale à 20%) avec une sensibilité et une spécificité de 96 et 71% respectivement (Mogensen et al. 2006).

On doit souligner que la pâleur cutanée et la splénomégalie en présence de fièvre se sont avérés être de bons prédicteurs positifs de parasitémie, mais surtout que cette association permet la mise en évidence d'un des signes de la forme la plus meurtrière du paludisme dans les milieux endémiques (Genton et al. 1994, Muhe et al. 1999, Redd et al. 1996, Weber et al. 1997)<sup>86</sup>.

### *Attitude face à l'anémie palustre*

La complication majeure du paludisme chez les nourrissons en zone d'endémie est l'anémie. Cette manifestation du paludisme se développe progressivement et ne répond que partiellement au traitement des accès fébriles (Ekvall et al. 1998). Dès lors la possibilité d'une prophylaxie anti-palustre administrée à tous les enfants s'est révélée être une alternative intéressante. L'efficacité de cette attitude bute sur deux questions cruciales. D'une part quelle influence sur le développement des résistances peut avoir la distribution massive d'antipaludiques, d'autre part en supposant que cette prophylaxie retarde le développement de l'immunité anti palustre, quel sera à court et moyen terme l'impact sur la morbidité et la mortalité. On retire de l'évaluation des essais de prophylaxie randomisés des conclusions controversées. Certaines études tirent les conclusions d'une augmentation de la morbidité sans modification de la mortalité après arrêt du schéma de prophylaxie, alors que d'autres ne retrouvent pas ce rebond, démontrant au contraire la diminution du nombre d'accès clinique ainsi qu'une amélioration notable du taux d'hémoglobine. La discordance des résultats peut très probablement s'expliquer par les différences dans les schémas prophylactiques appliqués et l'âge auquel ils sont administrés, ainsi que la durée de ceux-ci. Dans la même région, en Tanzanie, le même groupe a réalisé deux essais randomisés, l'un consistant en une administration hebdomadaire de Deltaprim®, depuis l'âge de 2 mois jusqu'à 12 mois (Menendez et al. 1997), l'autre en une administration de Fansidar®, qui se superposait au calendrier du PEV, à 2,3 puis 9 mois (Schellenberg et al. 2001). Les 2 interventions ont une efficacité similaire en termes de diminution du nombre d'accès palustre dans le groupe traité, la réduction de l'incidence d'anémie sévère est de 65.9% pour la première stratégie et de 50.3% pour la seconde. Néanmoins le premier schéma est suivi d'une augmentation du nombre de d'accès de fièvre, phénomène non observé dans la deuxième étude. Dans cette dernière, la survenue du premier accès de paludisme est repoussée vers le 5<sup>ème</sup> mois, ce qui ne semble pas modifier l'acquisition de l'immunité palustre. Il est possible que jusqu'à cet âge l'immunité de l'enfant soit immature et ne développe pas encore de défenses suffisantes pour que la suppression de la stimulation antigénique se traduise par une recrudescence du nombre d'accès cliniques. Un autre point de vue consiste à s'appuyer sur la constatation, durant les suivis longitudinaux de l'hématocrite, que seuls les enfants ayant une parasitémie indétectable à 2 reprises au cours du suivi corrigent leur hémoglobine de manière significative. Ceci signifierait qu'en permettant au système hématopoïétique d'échapper à cette charge parasitaire chronique asymptomatique à un certain nombre de reprises, l'équilibre de la formation et de la destruction des hématies pourrait se rétablir, évitant, à l'âge critique, de développer une anémie palustre grave. En revanche, si la suppression de l'exposition aux parasites est prolongée, l'immunité de l'enfant ne peut se développer et le résultat n'est qu'un décalage dans l'acquisition de l'immunité. Ce décalage, qu'on retrouve aussi dans les interventions basées sur les moustiquaires imprégnées, modifie plus ou moins l'exposition d'une forte endémie à celle d'une

---

<sup>86</sup> L'ajout de ces 2 éléments cliniques à la présence de fièvre augmente la spécificité sans diminuer la sensibilité de manière importante (sensibilité de 65% et spécificité de 81% en saison sèche et 69% et 80% respectivement en saison humide), comparé à la définition de l'IMCI dont la sensibilité est de 71% et la spécificité de 56%

moyenne à faible endémie, laissant craindre que le seul résultat obtenu par ces interventions soit une augmentation de la forme cérébrale aiguë du paludisme plutôt qu'une diminution de la forme anémique, avec dans l'ensemble aucun gain sur la mortalité, voir une augmentation de celle-ci. Au vu des difficultés rencontrées dans l'évaluation de la morbidité et de la mortalité palustre, en raison de l'imprécision de l'« autopsie verbale », outil unique dans le relevé de la mortalité palustre, et des influences multiples du parasite sur d'autres maladies, ainsi que de l'impossibilité de circonscrire précisément certains syndromes palustres, cette question reste jusqu'à présent débattue, mais semble néanmoins avoir été infirmée par plusieurs études (Molineaux 1997).

Une autre question se pose avec le coût qui est un problème, à l'évidence, primordial dans ces pays. Une évaluation comparant le coût en DALY (*Disability Adjusted Life Years*) d'une intervention suivant le deuxième schéma décrit ci-dessus avec le Deltaprim®, seul ou en association avec du fer ou fer seul, conclut que l'anti-malarique associé au fer présente le meilleur coût-bénéfice du point de vue microéconomique aussi bien que socioculturel.

D'un point de vue pratique, les enfants qui doivent être amenés au dispensaire pour être traités durant la saison des pluies représentent un poids économique important pour la famille dont les jours de travail durant cette période sont précieux. En raison de cette charge de travail importante durant la saison des pluies, les familles consultent souvent tardivement, espérant que la fièvre de l'enfant va disparaître spontanément.

Dans les centres de transfusion les contrôles sérologiques pour l'infection HIV ne sont pas réalisés strictement et on estime à un quart des infections HIV la proportion d'enfants infectés par le sang transfusé dans les années 90 au Zaïre. L'administration de sang dans ces pays doit donc être prudente et si possible évitée.

Un suivi de toutes les admissions pour anémie grave au Kenya aboutit aux conclusions suivantes: l'anémie palustre sévère avec une hémoglobine inférieure à 3.9 g/dl en présence de signes de détresse respiratoire nécessite une transfusion sanguine. Mais pour obtenir un bénéfice sur la mortalité celle-ci doit être réalisée dans les 48 premières heures de l'hospitalisation car la moitié des décès dans cette population survient le jour de l'hospitalisation. Dans cette même étude 41% des transfusions sont administrées après 48 heures reflétant les difficultés pratiques à obtenir du sang dans ces pays. Le système en vigueur dans un certain nombre d'hôpitaux africains exige que les parents eux-mêmes donnent leur sang ce qui dans certains cas est refusé et retarde l'administration de sang à l'enfant ; de plus, les coûts de la transfusion sont élevés et la plupart du temps à la charge de la famille (Lackritz et al. 1997), (McElroy et al. 1999).

### ***Influence des anti-paludiques sur l'anémie***

Un certain nombre d'observations semblent indiquer que le développement de résistance à la chloroquine aggrave l'anémie lors de traitements inefficaces. Cet effet est particulièrement grave dans la population d'enfants atteints d'anémie palustre chez lesquels l'accentuation iatrogène de la chute de l'hémoglobine péjore le pronostic vital. De plus, dans une population d'enfants les « *early treatment failure* » sont plus fréquemment retrouvés chez les moins de 1 an.

Dans les régions présentant une résistance à la chloroquine, la comparaison de l'effet des différents traitements sur l'hématocrite montre, avec un régime de chloroquine, une chute plus importante de l'hématocrite lors de « *early treatment failure* » que lors de « *late treatment failure* » alors que le traitement à la sulfadoxine / pyriméthamine améliore l'hématocrite. Même parmi les enfants ne présentant pas de résistance clinique, on observe une absence d'amélioration de l'hématocrite durant le suivi d'enfants traités par chloroquine.

Les enfants ayant bénéficiés d'un traitement de sulfadoxine + pyriméthamine durant les 30 à 45 jours précédant le prélèvement avait, en moyenne, une hémoglobine plus élevée de 0.5 g/dl comparé aux enfants n'ayant pas reçu de traitement. Les enfants ayant reçu de la chloroquine avaient en revanche une augmentation en moyenne de 0.15 g/dl, et ceci au Kenya durant une étude menée entre 1992 et 1996 (McElroy et al. 1999).

Chez les nourrissons, l'immaturation de l'immunité anti-palustre pourrait expliquer une incapacité à éliminer les parasites rendant manifeste l'effet plus important de la persistance des parasites dus à la résistance au médicament. La chloroquine peut donc avoir un effet clinique satisfaisant, sans pour autant corriger l'hématocrite, qui est un des paramètres dont la péjoration mène à la complication vitale la plus fréquente à cet âge.

### ***Niveau d'intervention pour le traitement de l'accès palustre***

La proportion d'enfants <5 ans présentant une fièvre d'origine potentiellement palustre qui sont amenés au centre de santé est, comme on l'a vu, très variable. La proportion de décès attribuable au paludisme qui n'ont pas été vu au centre de santé est considérable en zone d'endémie<sup>87</sup> (Muller et al. 2003). Ce fait souligne l'importance d'interventions au niveau communautaire, nécessitant l'administration précoce et large d'antipaludiques devant les accès fébriles d'origine indéterminée. La mise en œuvre de telles interventions s'avère complexe, alors que les traitements de première ligne dans grand nombre de pays sont les préparations combinées à base de dérivés d'arthémisine dont le prix est 10 fois plus cher que la chloroquine.

---

<sup>87</sup> Dans une zone holo-endémique au Burkina Faso, sur 7 décès attribuables au paludisme, 2 ont été amenés au centre de santé précédemment et 1 à l'hôpital.

## Le manque d'outils pour le diagnostic d'accès de paludisme

Notons une fois de plus que les considérations ci-après semblent souvent manquer de cohérence, du fait que la découverte de *Plasmodium* sur un frottis hématologique (ou dans le cadre d'un test diagnostique rapide) démontre une « infection », condition nécessaire mais de loin pas suffisante pour affirmer le diagnostic de « maladie » (ou d'accès) palustre, le mélange des deux notions étant, dans la pratique, la règle plutôt que l'exception ...

Les médecins ont nourri l'espoir de voir se développer des laboratoires dotés de microscopes pour la mise en évidence de parasites sur les frottis hématologiques minces ou épais, convaincus que le diagnostic de paludisme ne pouvait se passer de la détection du parasite dans le sang périphérique. On constate que dans les régions où la microscopie est disponible dans les centres de santé périphériques, leur utilisation diffère de manière importante entre les centres et les conclusions tirées d'un résultat hématologique aident peu par manque de directives cohérentes.<sup>88</sup> (Barat et al. 1999). On se pose la question de savoir si l'utilisation marginale et non-structurée de cet outil provient de l'absence de directives pour son utilisation ou de la démonstration par la pratique de l'inutilité d'un tel outil pour toutes les raisons biologiques et techniques évoquées précédemment.

Malgré cela, introduire la microscopie au niveau de centres de santé périphériques dans certains contextes endémiques, semble avoir son intérêt en presumant que premièrement la clinique est d'une aide limitée et donc nécessite une approche thérapeutique très large et que deuxièmement le résultat d'un examen hématologique, surtout *négatif*, est d'une bonne valeur prédictive (négative) (Jonkman et al. 1995)<sup>89</sup>.

Devant le constat de l'impossibilité du déploiement d'une telle technologie, l'objectif consiste à rechercher un diagnostic clinique qui pourrait remplacer le diagnostic microscopique. Dans cette démarche on se réfère à un diagnostic dont l'erreur discutée dans les chapitres précédents ne peut être quantifiée, faussant ainsi toute conclusion quant à la validité d'un diagnostic clinique. L'évaluation de ces diagnostics cliniques est par ailleurs difficile car ils se réfèrent à des sensibilités, spécificités et valeurs prédictives sans données sur la *prévalence*.

Il s'agit d'une maladie fréquente dont les manifestations sont très peu spécifiques ou ont été jugées inutilisables en raison d'une évaluation erronée de celles-ci et qui, dans une proportion inconnue des fièvres, peuvent conduire rapidement à une issue fatale. Devant la situation complexe, l'attitude édictée par l'OMS est de traiter spécifiquement, dans les régions dépourvues de laboratoire, toute fièvre ou histoire de fièvre sans origine identifiable. Pour appliquer une telle directive, encore faudrait-il disposer des médicaments nécessaires...

Enfin, il se pourrait que l'entité clinique d'accès palustre simple ne puisse être définie que comme une maladie dont l'intensité se situe entre l'état de *porteur asymptomatique* et *l'accès grave et compliqué* regroupant les fièvres d'intensité modérées accompagnées d'une asthénie importante chez les patients semi-immuns jusqu'à la fièvre intense avec atteintes d'organes multiples (Rogier et al. 1999).

---

<sup>88</sup> Malgré un résultat microscopique négatif, des traitements antipaludiques ont été administrés, le plus souvent dans le cas de forte suspicion clinique. Ainsi, sur 253 lames négatives, 35% ont reçu néanmoins un antimalarique. En outre, l'utilisation de la microscopie est marginale. Seul 2-3% des cas présumés de paludisme sont soutenu par un examen hématologique.

Parmi tous les patients ayant consulté, l'âge du patient n'est pas pris en compte dans la décision de traiter. Parmi les 655 patients investigués 57% ont reçu un antimalarique, et 58% parmi les enfants moins de 5 ans.

<sup>89</sup> L'introduction au Malawi de la microscopie dans un hôpital départemental de 800 lits semble montrer une efficacité au niveau du coût par la diminution du nombre de traitement.

La pratique dans les centres de santé montre que les signes et symptômes évalués et discutés dans les prochains chapitres ne sont en fait que rarement investigués par le personnel de santé <sup>90</sup> (Font et al. 2001). Peut-on expliquer cette réalité par l'existence de directives nationales sur la prise en charge d'un cas de paludisme trop large ou résultent-elles d'une absence totale et réelle de spécificité du diagnostic clinique de paludisme ? **En effet si les directives sont de traiter toute fièvre ou histoire de fièvre sans autre cause décelable ni autre signe distinctif, il semblerait logique de ne pas mesurer la fièvre ni rechercher les parasites...**

---

<sup>90</sup> Dans une étude en Tanzanie F. Font évaluant les modalités et la validité du diagnostic de paludisme dans un centre de santé périphérique, montrent que la consultation est menée par un personnel dont l'expérience moyenne est de 2 ans, la durée de la consultation moyenne est de moins de 5 minutes, et parmi les cas suspectés de paludisme la température est mesurée dans 40% des cas et la pâleur conjonctivale évaluée dans 27% des cas et le niveau de déshydratation dans 3%, enfin 93% des patients ayant consultés reçoivent une prescription de médicaments avec un nombre de médicaments moyens de 2 +/- 1. (Dernière constatation qui ressemble probablement à la pratique en cours dans nos hôpitaux les plus périphériques aux urgences...). Enfin les médicaments anti-malariques prescrits étaient surdosés dans 10.5% et sous-dosés dans 10% et prescrits pour une durée trop courte dans 14.5% des cas. Dans une autre étude dans un centre de santé en Angola la température n'était mesurée que parmi 2% des patients consultant pour fièvre (Bjork et al.1992), et dans 68% en Côte d'Ivoire (Traoré et al.1991).

## Conséquences sur les choix médicaux et technologiques

Actuellement, les directives de l’OMS sur l’accès palustre simple prévoient, en présence de facilités de laboratoire, de ne traiter que les fièvres ou histoire de fièvre confirmées par un examen hématologique, ce dans les zones à transmission basse (faible), modérée ou instable. L’OMS recommande que dans les zones à faible transmission, les agents de santé soient formés à reconnaître les patients qui ont été exposés à la transmission du paludisme avant de réaliser un examen parasitologique. Dans les régions de haute (forte) transmission stable, l’OMS recommande de traiter tout enfant présentant une fièvre  $> 37.5$  °C ou une histoire de fièvre sans cause apparente. Notons que, dans ce cas, le manque de personnel suffisamment formé à des diagnostics essentiellement cliniques fiables est presque aussi criant que celui des médicaments efficaces une fois le diagnostic posé... Chez les enfants de  $\geq 5$  ans et les femmes enceintes, ainsi que dans les régions à hautes prévalence du VIH, l’OMS recommande une « confirmation » par un examen parasitologique. Répétons une fois encore que la découverte de parasites du paludisme dans le sang périphérique ne constitue en aucune façon une « confirmation » de l’origine palustre de la fièvre. On verra dans les paragraphes suivants, les conséquences possibles de ces directives sur le traitement des syndromes fébriles en périphérie, sur le développement de résistances, ainsi que l’impossibilité de réalisation de celle-ci au vu de la disponibilité des médicaments en périphérie et des fonds théoriques nécessaires pour assurer une telle stratégie. Enfin, au vu des indicateurs de mortalité palustre, l’erreur potentielle générée par cette attitude sera discutée.

Au niveau du centre de santé, les enfants fébriles sans paludisme clinique diagnostiqué, sont étiquetés comme ayant un accès de paludisme et reçoivent parfois un antipaludique lorsqu’un médicament est disponible, plus fréquemment une ordonnance dont la rédaction a comme effet principal de confirmer le médecin ou l’infirmier, voire l’aide-infirmier, dans leur statut de « docteurs », les patients ou leurs parents se heurtant le plus souvent à un manque d’argent et/ou de médicaments accessibles, même payants... Un certain nombre de ces enfants quitte le centre avec une autre pathologie potentiellement grave non traitée (Nsimba et al. 2002), et ce de façon plus marquée dans des zones à faible transmission (Ndyomugenyi et al. 2007).

Le profil des effets indésirables des nouvelles combinaisons médicamenteuses est encore peu connu et les effets secondaires de la combinaison sulfadoxine+pyriméthamine (Fansidar® ; SP) sont potentiellement plus graves et plus fréquents que ceux de la chloroquine. La SP semble agir plus lentement sur les signes et symptômes du paludisme comparé à la chloroquine (Nivaquine®, Chloroquine ; CQ), ce qui ne permet plus d'utiliser ce médicament comme outil diagnostic thérapeutique. En outre, les nouvelles combinaisons médicamenteuses ainsi que la SP sont nettement plus chers que la CQ, et le profil des effets secondaires de ces médicaments est encore peu connu. On ne parle évidemment même pas des nouvelles molécules et combinaisons tels que méfloquine, luméphantrine, atovaquone+proguanil, toutes bien trop chères, alors que la mise à disposition de suppositoires à base d’artémisinine n’en est qu’à ses débuts...

### *Disponibilité des médicaments*

Une étude évaluant un programme de traitement des accès palustre administré par les mères à domicile montre que la disponibilité dans les centres de santé est d’environ 69 %, mais seule une partie des villages est approvisionnée en médicaments ce qui donne une disponibilité de médicaments sur le plan communautaire de 50% (Pagnoni et al. 1997). A noter que les résultats de cette étude ne représentent que l’endroit où elle s’est déroulée et que l’auteur de ces lignes connaît moult endroits où la situation se révèle bien pire.

Un autre facteur déterminant échappant aux acteurs de la santé, est l'utilisation étendue des vendeurs informels de médicaments. En regard des différences de la morbidité et mortalité entre les moins de 5 ans et la population adulte, l'étude de ces réseaux, montre que les médicaments sont beaucoup plus utilisés par la population adulte et ne parvient pas suffisamment à la population la plus touchée, les enfants (Abuya et al. 2007).

### *Retardement de la survenue de résistance*

La facilitation de mise en place de schémas de traitement au niveau communautaire permet un traitement rapide des accès palustres présomptifs, faisant tomber un certain nombre de barrières à l'accès au traitement, la distance et les coûts impliqués par une visite au centre de santé. Cette attitude large de distribution des nouvelles combinaisons médicamenteuses s'oppose à la réalité que représente lors d'exposition massive des souches locales du parasite aux anti-paludiques, le développement plus rapide de résistances<sup>91</sup>.

Le développement de résistance à la chloroquine mène à un échec de traitement ayant pour conséquences non-seulement un risque accru d'accès compliqué mais aussi une aggravation de l'anémie, facteur insuffisamment pris en compte sachant que l'anémie est le plus grand pourvoyeur de décès chez les enfants en bas-âge, dans les régions holoendémiques<sup>92</sup>. Néanmoins, on sait que la chloroquine, dans les régions à résistance partielle n'a aucun effet sur l'hémoglobine, mais dans la plupart des études sur le sujet, nous n'avons pas de comparatif entre la population traitée par la chloroquine et la population non-traitée.

### *Arguments contre l'utilisation d'algorithmes spécifiques*

Le refus d'utilisation d'algorithmes cliniques spécifiques repose sur l'affirmation qu'une fièvre avec ou sans diagnostic parasitologique positif doit être impérativement traitée. Cette attitude repose sur le risque de toute fièvre palustre d'évoluer rapidement vers un paludisme grave, dont l'issue est fatale dans une certaine proportion des cas. A noter cependant qu'aucune estimation sérieuse et globale de ces risques (% accès simple → % accès grave → % décès) n'est actuellement disponible, les observations restant ponctuelles et les chiffres incertains<sup>93,94,95</sup> (Rogier et al. 1999) (Muller et al. 2003) (Esamai et al. 1999). Des estimations basées sur des chiffres réels et bien contrôlés représentent pourtant l'un des besoins majeurs pour toute stratégie de prise en charge et de lutte.

Cette lacune s'explique par le fait qu'il serait difficile d'imaginer une étude justifiable sur le plan éthique et suffisamment dotée pour diagnostiquer les cas d'accès simple et les cas de paludisme cérébral et les décès dus au paludisme en restant uniquement observationnel. Il se pourrait notamment qu'à l'instar de nombreux éléments cliniques de l'accès palustre, la rapidité d'évolution d'un accès vers une issue fatale soit fortement dépendante de l'âge du patient.

---

<sup>91</sup> Dans cette optique on peut s'étonner de la mise sur le marché d'Artémisine seule et non sous forme combinée, laissant craindre le développement d'autant plus rapide de résistances.

<sup>92</sup> Dans une région à haut taux de résistances, avec 75% des patients présentant une résistance RII ou RIII, L'impact sur la mortalité des différents traitements antipaludiques administrés semble importante. Ainsi, la part des décès attribuables à l'inefficacité de la chloroquine dans ce cadre hospitalier a été estimée à 67%.

<sup>93</sup> Rogier rapporte, durant un suivi rapproché communautaire, le cas d'un enfant qui malgré l'administration d'un antipaludique 12 heures après le début des symptômes a développé un coma 24 heures après le début du traitement et est décédé.

<sup>94</sup> Durant un suivi communautaire longitudinal dans une région holo-endémique à transmission saisonnière au Burkina-Faso, sur 7 décès attribués au paludisme, les symptômes ont débuté 24 h avant pour 2 d'entre eux et entre 2 et 21 jours pour le restant.

<sup>95</sup> Dans une étude hospitalière sur la présentation clinique du paludisme cérébral, le début de la maladie est de moins de 3 jours dans 68.1% des cas (Esamai F 1999).

## *Indicateurs d'un paludisme grave*

Etant donné l'imprécision de la définition du paludisme simple, on est tenté de se reposer sur les indicateurs cliniques du paludisme grave pour diagnostiquer et traiter le paludisme clinique. Dans une population de patients admis avec un diagnostic de paludisme, l'étude des facteurs liés à la mortalité pendant et après l'hospitalisation souligne l'importance du jeune âge et de l'anémie sévère comme principaux facteurs prédictifs de la mortalité. Les enfants fortement anémiés présentent une forte proportion de pathologies associées à l'anémie, montrant la prédisposition de cette population à des pathologies potentiellement mortelles. On peut émettre l'hypothèse qu'en zone d'endémie chez les jeunes enfants, en présence de facilités de laboratoire, la recherche d'une anémie par la mesure de l'hématocrite ou le dosage de l'hémoglobine pour décider du traitement en présence d'une fièvre d'origine indéterminée, a un meilleur impact que la recherche de parasite.

Dans une population d'enfants hospitalisés pour cause de paludisme, une série de signes et symptômes ont été confrontés au taux de létalité dans le but de dégager une sous-population comportant un pronostic vital plus sombre. La détresse respiratoire (a) définie cliniquement par la présence de battement des ailes du nez, tirage inter ou sous-costal, l'utilisation des muscles accessoires ou une respiration profonde (de Kussmaul), (b) l'altération de la conscience évaluée selon l'échelle de Blantyre, basée sur la réponse verbale, motrice, et réponse des mouvements oculaires à la stimulation, (c) l'hypoglycémie et (d) l'ictère, représentent quatre signes et symptômes dont la présence indique un risque accru de mortalité, avec des risques relatifs respectifs de 3,9 pour (a), 3,3 pour (b), 3,3 pour (c) et 2,6 pour (d). La détresse respiratoire semble être un facteur central du paludisme grave, et prédictif d'une issue fatale (Reyburn et al. 2005). Il n'avait jusque-là pas été reconnu comme une manifestation courante du paludisme grave chez l'enfant. Mais à la lumière de la physiopathologie de la détresse respiratoire qu'on a longtemps attribuée à une insuffisance cardiaque due à l'anémie sévère, l'acidose métabolique, qu'on retrouve dans la plupart des manifestations grave du paludisme, semblent y jouer un rôle important. On a démontré la valeur pronostique de l'acidose métabolique chez les enfants présentant une détresse respiratoire lors de l'hospitalisation. Dans une autre évaluation des signes et symptômes dans leur pouvoir prédictif de mortalité hospitalière, les enfants entre 1 et 7 mois présentant une tachypnée ou des signes de déshydratation et chez les enfants âgés de 8 mois à 4 ans, un tirage sous-sternal et l'incapacité de localiser un stimulus douloureux, avaient un risque plus élevé de mourir. Toutefois, de tels signes prédictifs seraient utiles dans un contexte extrahospitalier alors que la plupart des résultats sur le sujet ont été réalisés en milieu hospitalier et n'inclut donc pas l'étude de la majorité des sujets qui décèdent à domicile.

On peut relever que dans ce cadre, deux études évaluant des algorithmes cliniques réalisés dans des centres de santé de premier recours, une augmentation de la fréquence respiratoire, qui peut être un signe précurseur de détresse respiratoire, a montré une bonne corrélation avec la parasitémie. Une fréquence respiratoire augmentée présente un risque relatif de 2.45 et 1.85 de paludisme (Bojang et al. 2000, Olaleye et al. 1998).

Il serait nécessaire d'inclure dans ces algorithmes une étude plus complète du status respiratoire des enfants afin d'avoir un aperçu plus complet du développement des signes respiratoires chez les enfants se présentant à l'hôpital avec cette complication semble-t-il liée au paludisme. Etant donné que l'anémie fait partie des éléments causals de la détresse respiratoire et que son évolution est lente on peut postuler qu'une certaine proportion des détresses respiratoires ne sont pas de survenue aiguë, ce qui en ferait un outil idéal dans la détection d'une évolution potentielle vers un paludisme grave. La difficulté réside dans le fait que les signes de détresse respiratoire sont difficilement reconnus par les mères et les personnes qui ne sont pas des professionnels de la santé entraînés et avertis...

En résumé le lien, en milieu hospitalier, entre les signes de détresse respiratoire et le paludisme grave paraît clair alors qu'au niveau communautaire il est présent mais peu fréquemment relevé. Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette différence. Il se pourrait que la détresse respiratoire ne se développe que de manière aiguë, et soit donc seulement détectée lorsque l'enfant se trouve à l'hôpital ou encore que la population examinée dans les centres périphérique soit composée de sujets dont l'histoire de la maladie est plus courte. Il se peut enfin que, comme nous l'avons relevé dans les chapitres précédents, les critères utilisés pour définir l'accès palustre ne soient pas assez précis pour discerner les cas les plus susceptibles d'évoluer vers une forme grave. Pourtant, comme souligné ci-dessus, certains éléments étudiés en milieu hospitalier mériteraient une évaluation au sein de la communauté puisque, par définition, des critères prédictifs devraient être découverts le plus précocement possible afin d'éviter les complications et le décès.

## Conclusions

Ce travail décrit les limites des tests diagnostiques pour la détection hématologique du Plasmodium, et met en lumière la distinction entre infection et maladie palustre. Ces deux caractéristiques du diagnostic parasitologique peuvent être illustrées par deux exemples de la médecine occidentale.

1) l'utilisation des d-dimères pour le diagnostic d'embolie pulmonaire manque de sensibilité et de spécificité ; par conséquent, le médecin face à une dyspnée d'origine peu claire doit évaluer la probabilité pré-test de la maladie, sans quoi il s'expose potentiellement à une cascade d'examen inutiles. 2) le diagnostic d'infection urinaire simple chez la femme pose le problème de l'erreur intrinsèque au test et du portage asymptomatique, poussant à une attitude de traitement présomptif lorsque la clinique est très suggestive, à un test lors d'une clinique moyennement suggestive, et à l'abstention de test lors d'une probabilité clinique faible.

La nécessité d'un traitement antipaludique, précédé ou non d'un examen parasitologique doit se baser sur la probabilité pré-test du patient d'avoir la maladie. Cette probabilité se base sur des éléments cliniques, l'âge du patient, la force de transmission du parasite et la saisonnalité.

L'importance des symptômes et signes d'un accès palustre simple dans l'élaboration d'un arbre décisionnel pour le traitement des fièvres palustres reste ouverts. En se référant à un diagnostic erroné, les études sur le diagnostic clinique du paludisme ont conclu au manque d'utilité des signes et symptômes du paludisme. Les conclusions quant à la validité des éléments cliniques du diagnostic doivent être revues. Celle-ci doit s'opérer par un changement de la méthode employée pour l'évaluation du diagnostic de paludisme, partant du principe qu'il n'existe pas de diagnostic du paludisme dit simple. Parmi les signes et symptômes de l'accès palustre, dans les régions à endémicité moyenne à forte, on peut retenir l'anémie, signe très souvent spécifique mais peu sensible et décalé dans le temps, pour un accès palustre et comme manifestation d'une forme grave du paludisme.

L'endémicité est un élément clé quant à l'élaboration d'un arbre décisionnel pour le traitement des fièvres palustres. La spécificité et la sensibilité des tests diagnostiques pour le Plasmodium sont tous deux dépendants de la prévalence de l'infection asymptomatique. La mortalité, la morbidité et le spectre de la maladie varient fortement avec l'endémicité. Dans les régions à faible transmission, il faut relever l'importance de la variabilité locale dans la force de transmission dépendant entre autres des différences dans la proximité aux points d'eau. Outre l'endémicité, la saisonnalité de la transmission est un paramètre essentiel à prendre en considération, eu égard à la bonne corrélation établie entre les paramètres pluviométriques, la force de transmission, la morbidité et la mortalité palustre. On peut se demander si à l'avenir les laboratoires des centres de santé périphériques verront les microscopes remplacés par des centrifugeuses à hématoците et des pluviomètres...

Ainsi, à l'ère des traitements de première intention coûteux, il est nécessaire de cibler le traitement sur les fièvres qui sont le plus *probablement* d'origine palustre. Dans ce contexte, l'utilité des examens de laboratoire est incontestable dans les régions à faible transmission. Dans les régions à forte transmission, durant la saison des pluies, on doit favoriser une attitude de traitement présomptif du paludisme. Dans les régions à transmission moyenne, l'attitude la plus efficace, entre le traitement présomptif ou un traitement précédé d'examen de laboratoire reste à définir.

## **Remerciements**

Je voudrais remercier mon directeur de thèse, le Professeur André Rougemont. Sa tendance à remettre tout en question et sa persévérance ont éveillé et nourri mon intérêt pour cette recherche, sa patience, sa franchise et son sens de l'humour ont permis un travail agréable.

Merci à Anne Mauris, dont la précision dans le travail ont été très inspirant, à Eric Brenner pour ces conseils enrichissants, à Madame Véronique Fassnacht, pour la relecture attentive, aux villageois de Mendela pour leurs sourires, et leur sens de l'accueil, à mes proches pour leur soutien et leur patience.

## **ANNEXE 1 : contribution personnelle publiée**

Le travail ci-après, publié dans le *BMC Infectious diseases* en 2006 a obtenu le label « *Highly accessed* ». De nature plus méthodologique, basé sur un modèle, il démontre que la recherche des parasites sanguins pour le diagnostic du paludisme n'apporte un surplus d'information quant à l'origine palustre d'un complexe symptomatique dominé par la fièvre que pour une population dans laquelle la proportion de porteurs sains d'hématozoaires n'excède pas 10 à 20 %, ce qui n'est pas le cas dans la plupart des zones impaludées.

Research article

Open Access

## Utility of the detection of *Plasmodium* parasites for the diagnosis of malaria in endemic areas

Thomas V Perneger\*<sup>1,2</sup>, Thomas Szeless<sup>1</sup> and André Rougemont<sup>1</sup>

Address: <sup>1</sup>Institute of Social and Preventive Medicine, University of Geneva, CH-1211 Geneva, Switzerland and <sup>2</sup>Quality of Care Service, University Hospitals of Geneva, CH-1211 Geneva, Switzerland

Email: Thomas V Perneger\* - thomas.perneger@hcuge.ch; Thomas Szeless - tszeless\_gr@sec.sec.spital.ktso.ch; André Rougemont - andre.rougemont@imsp.unige.ch

\* Corresponding author

Published: 02 May 2006

Received: 08 February 2006

BMC Infectious Diseases 2006, 6:81 doi:10.1186/1471-2334-6-81

Accepted: 02 May 2006

This article is available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/6/81>

© 2006 Perneger 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 populations where the prevalence of infection with *Plasmodium* parasites is high, blood tests that identify *Plasmodium* parasites in patients with fever may lead to false positive diagnosis of malaria-disease. We characterised the diminishing value of the parasite detection test as a function of the prevalence of infection.

**Methods:** We computed the ability of the parasite detection test to identify malaria at various levels of prevalence (0% to 90%), assuming plausible estimates of sensitivity (95% and 85%) and specificity (99% and 95%) for the detection of parasites. In each situation, we computed likelihood ratios of malaria (or absence of malaria) for positive and negative parasite detection tests. Likelihood ratios were classified as clinically useful ( $\geq 10$ ), intermediate (5–10), or unhelpful ( $<5$ ).

**Results:** Likelihood ratios of positive tests were strongly related to the prevalence of infection in the general population: a positive test was unhelpful when the prevalence was 20% or more, and useful only when prevalence was 5% or less. The sensitivity and specificity of the test had little influence on these results. Likelihood ratios of negative tests were clinically useful when prevalence was 70% or less, but only for high levels of sensitivity (95%). If sensitivity was low (85%), the negative test was at best of intermediate utility, and was unhelpful if the prevalence of asymptomatic infection exceeded 30%.

**Conclusion:** Identification of *Plasmodium* parasites supports a diagnosis of malaria only in areas where the prevalence of *Plasmodium* infection is low. Wherever this prevalence exceeds about 20%, a positive test is clinically unhelpful.

### Background

In current practice, the diagnosis of malaria in a patient in whom this disease is suspected rests on the identification of *Plasmodium* parasites in the patient's blood [1]. This diagnostic method is currently recommended by the World Health Organization [2]. Parasite detection tests

include the classical methods of the thick or thin blood smear, and various rapid diagnostic tests [3].

This approach works well in cases of traveller's malaria, and more generally whenever the patient is unlikely to be an asymptomatic carrier of *Plasmodium* parasites. However, in populations where malaria is common, many

people are infected by Plasmodium parasites without being sick. In such situations, using the presence of parasites as a criterion for diagnosing malaria in a febrile patient will lead to over-diagnosis of malaria, unnecessary anti-malarial treatments, and missed diagnoses of other febrile illnesses. While this point has been made by experts previously [1], it is usually framed in general terms, without precise guidance as to when a positive or a negative parasite detection test is clinically useful, and when it is not. In this paper, we examine the influence of the prevalence of asymptomatic parasitic infection on the clinical utility of parasite detection for the diagnosis of malaria in patients with fever.

**Methods**

We examined various hypotheses regarding test performance and the prevalence of parasitic infection in the general population. A prevalence <20% is sometimes qualified as low, 20–50% as intermediate, and >50% as high.

We distinguish between the ability of a test to detect parasites in a person's blood, i.e., infection, from its ability to identify malaria as clinical disease in a patient with fever. The former is a general characteristic of the test, independent of the prevalence of parasitic infection. The latter pertains to a test used in specific epidemiologic circumstances, and is related to the prevalence of infection (Box 1).

**Assessing the utility of a diagnostic test**

Classic measures of the performance of a diagnostic test are its sensitivity (Sn) – i.e., the proportion of positive tests among those with the disease – and its specificity (Sp) – i.e., the proportion of negative tests among those without the disease. However, these statistics are not directly applicable in clinical practice, for if we knew who had the disease and who did not, we would not need the test. The clinician is typically interested in the test's positive predictive value – i.e., the proportion of diseased people among those with a positive test, and in its negative predictive value – i.e., the proportion of non-diseased people among those with a negative test. The drawback of these statistics is that they depend strongly on the pre-test probability of disease, which varies from patient to patient.

The statistic that best characterises the clinical utility of a test result is the likelihood ratio (LR) [5-7]. The likelihood ratio is the ratio of probabilities of a given test result under the 2 hypotheses under consideration – i.e., presence versus absence of disease. The likelihood ratio of a positive test is given by  $LR+ = Sn/(1 - Sp)$ , and the likelihood ratio of a negative test, by  $LR- = (1 - Sn)/Sp$ . To facilitate comparisons [6,7], likelihood ratios of a negative test are

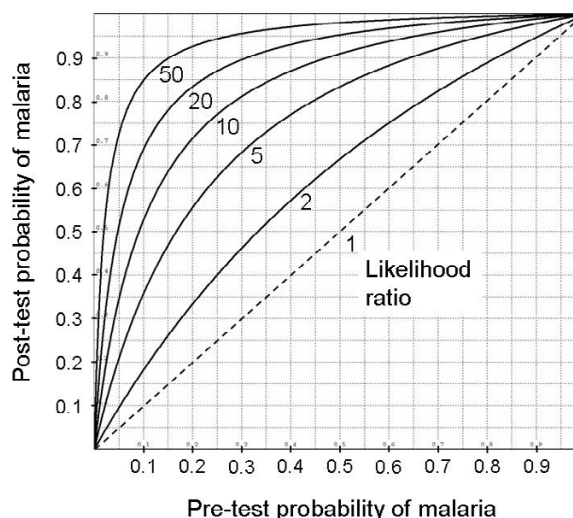
sometimes shown for the absence of disease, i.e.,  $LR- = Sp/(1 - Sn)$ . This merely inverts the likelihood ratio: a likelihood ratio of 0.1 for the disease becomes 10 for the absence of disease. We have adopted this convention in this paper.

The likelihood ratio allows the computation of the post-test probability of disease. According to the Bayes' theorem, post-test odds of disease are the product of the likelihood ratio and the pre-test odds [5-7]. Because probabilities can be converted into odds ( $O = P/(1 - P)$ ), and odds into probabilities ( $P = O/(O + 1)$ ), the likelihood ratio allows the transformation of a pre-test probability into a post-test probability (Figure 1). For example, if the pre-test probability of disease was 20% (i.e., pre-test odds = 1/4), and the test was positive, with a likelihood ratio of 8, the post-test odds of disease would be 2 (i.e.,  $8 \times (1/4)$ ), and the corresponding probability 66.7% (i.e.,  $2/(2+1)$ ).

This is how likelihood ratios can be interpreted [6]: a likelihood ratio is clinically useful if it equals 10 or more, of intermediate usefulness between 5 and 10, and clinically unhelpful below 5.

**Detection of parasites in blood**

To examine the performance of a parasite detection test for determining the presence or absence of Plasmodium parasites in the blood, we assumed a sensitivity of either 85% or 95%, and a specificity of either 95% or 99%. This



**Figure 1** Post-test probability of malaria, as a function of pre-test probability of malaria, for 5 levels of the likelihood ratio of a positive test (2, 5, 10, 20 or 50). An uninformative test (likelihood ratio = 1) is shown as a diagonal dotted line.

means that among 100 persons who harbour parasites, the test will be positive for 85 or 95. The remaining are "false negatives", due to technical problems, or to the parasite being absent from peripheral blood for a portion of its life cycle [4]. Similarly, among 100 persons who do not harbour parasites, the test will be falsely positive for 1 to 5, due to various laboratory errors. These values of sensitivity and specificity can be considered as realistic in a well equipped and expertly managed laboratory.

**Diagnosis of malaria**

In a clinical context, the purpose of the test is not merely to detect parasites in the blood, but to establish or rule out the diagnosis of malaria in patients in whom the disease is suspected. Three types of patients should be considered (Table 1): a) patients with malaria, all of whom can be assumed to harbour parasites, b) patients with fever from another origin who are also infected - but not ill - with *Plasmodium*, and c) patients with fever from another origin who are not infected with *Plasmodium*. The probability that patients with fever from another origin are also infected with *Plasmodium* equals roughly the prevalence of parasitic infection in the general population. If this prevalence is nil, as is the case in much of the Western world, the performance of the test for diagnosing malaria is the same as for identifying the presence of parasites.

The sensitivity of the parasite detection test for detecting malaria ( $S_{n_m}$ ) will be the same as its sensitivity for detecting parasites ( $S_{n_p}$ ). However, the specificity of the test for

detecting malaria ( $S_{p_m}$ ) will be influenced by the prevalence of infection, because the population under consideration is a mixture of two subgroups: patients who are infected with *Plasmodium* (proportion  $x$ ), and of those who are not (proportion  $1-x$ ). The specificity of the test for detecting malaria becomes  $S_{p_m} = S_{p_p} \cdot (1 - x) + (1 - S_{n_p}) \cdot x$ , and its complement,  $1 - S_{p_m} = (1 - S_{p_p}) \cdot (1 - x) + S_{n_p} \cdot x$  (Box 1).

Consequently, the likelihood ratio of a positive test for the presence of malaria disease becomes

$$LR_{+m} = \frac{S_{n_p}}{(1 - S_{p_p}) \cdot (1 - x) + S_{n_p} \cdot x}$$

of a negative test for the absence of malaria is

$$LR_{-0m} = \frac{S_{p_p} \cdot (1 - x) + (1 - S_{n_p}) \cdot x}{1 - S_{n_p}}$$

Note that the proportion of *Plasmodium* carriage in the population (denoted by  $x$  in Table 1) is distinct from the pre-test probability of malaria in a given patient with fever (denoted by  $m$  in Table 1). The former is a characteristic of the population to which the patient belongs. The latter depends on various patient-related factors, such as the intensity and temporal pattern of fever, presence or absence of an enlarged spleen, anemia, pregnancy, age, exposure to mosquito bites, season, likelihood of alternate diseases, etc.

**Table 1: Performance of Plasmodium detection tests in endemic populations: a) detection of the presence of parasites, b) diagnosis of a malaria. The parameters considered include the specificity of the test for the detection of parasites in blood ( $S_{n_p}$ ), the corresponding specificity ( $S_{p_p}$ ), the prevalence of malaria infection in the general population ( $x$ ), and the pre-test probability of a malaria attack in a patient with fever ( $m$ )**

a) Detection of parasites			
	Disease status		
	Malaria	Other febrile illness, parasites present	Other febrile illness, parasites absent
Positive parasite detection test	$S_{n_p}$	$S_{n_p}$	$1 - S_{p_p}$
Negative parasite detection test	$1 - S_{n_p}$	$1 - S_{n_p}$	$S_{p_p}$
Column totals	1	1	1
Prevalence of infection in the general population	-	$x$	$1 - x$

b) Detection of malaria (disease)		
	Malaria	Other febrile illness
Positive parasite detection test	$S_{n_p}$	$S_{n_p} \cdot x + (1 - S_{p_p}) \cdot (1 - x)$
Negative parasite detection test	$1 - S_{n_p}$	$(1 - S_{n_p}) \cdot x + S_{p_p} \cdot (1 - x)$
Column totals	1	1
Pre-test probability of malaria	$m$	$1 - m$

**Effect of a higher threshold for a positive test**

Thus far we have assumed that the test would perform equally well in patients who suffer from malaria and in those who are infected but not ill with malaria. But because parasite levels are likely higher in the former group, the test may discriminate better if a higher parasite threshold is used to diagnose malaria – say, greater than 1000 parasites per  $\mu\text{L}$  instead of greater than 0. Raising the diagnostic threshold will decrease the sensitivity of the test, but less so in patients with malaria ( $\text{Sn}_{\text{p-malaria}}$ ) than in other patients ( $\text{Sn}_{\text{p-other}}$ ). At the same time, raising the threshold will increase the specificity of the test to virtually 100%. Under these conditions, the likelihood ratio of a positive test for the presence of malaria becomes:

$$\text{LR}_{+m} = \frac{1}{x} \cdot \frac{\text{Sn}_{\text{p-malaria}}}{\text{Sn}_{\text{p-other}}}$$

negative test for the absence of malaria becomes

$$\text{LR}_{-0m} = \frac{1 - x \cdot \text{Sn}_{\text{p-other}}}{1 - \text{Sn}_{\text{p-malaria}}}$$

**Analysis of test performance**

We considered a range of prevalence of infection in the general population between 0% and 90%, and plausible values of sensitivity (0.85 and 0.95) and specificity (0.95 and 0.99) of the test for the detection of parasites. We show likelihood ratios of malaria for a positive test (Table 2), and of absence of malaria for a negative test (Table 3).

We also explored the effect of raising the diagnostic threshold, assuming that this will lower the sensitivity of the test, but less so in patients with malaria than in patients with an asymptomatic infection (Table 4). The computations were done using macro functions written for SPSS software.

**Results**

**Detection of parasites**

The likelihood ratios for the detection of parasites correspond to those of the detection of malaria when the prevalence of asymptomatic infection is assumed to be nil (first result lines in Tables 2 and 3). For a positive test, the likelihood ratio was very high (95 and 85) when specificity was modelled as 0.99, and is still clinically useful (at 19 and 17) when specificity was assumed to be 0.95 (Table 2). In contrast, the likelihood ratio of a negative test depended on the value of sensitivity: it was close to 20 when sensitivity was modelled as 0.95, but of only borderline utility, around 6, when sensitivity was entered as 0.85 (Table 3).

**Detection of malaria**

Likelihood ratios of malaria for a positive test varied considerably with the prevalence of *Plasmodium* infection (Table 2). When the prevalence was assumed to be 5% or less, the likelihood ratios were about 10 or more, in the clinically useful range. On the other hand, for a prevalence of 20% or more, the likelihood ratio dropped below 5, which would not be considered clinically useful. At low values of prevalence, the specificity of the test influenced

**Table 2: Likelihood ratios of malaria when the parasite detection test is positive, according to the prevalence of infection in the general population, and to the sensitivity and specificity of the test for the detection of parasites. Clinically useful tests are in bolded type, tests of intermediate utility are in standard type, clinically unhelpful tests in italics**

Prevalence of infection in the general population	Sensitivity = 0.95		Sensitivity = 0.85	
	Spec. = 0.99	Spec. = 0.95	Spec. = 0.99	Spec. = 0.95
0%	<b>95.0</b>	<b>19.0</b>	<b>85.0</b>	<b>17.0</b>
0.1%	<b>86.8</b>	<b>18.7</b>	<b>78.4</b>	<b>16.7</b>
1%	<b>49.0</b>	<b>16.1</b>	<b>46.2</b>	<b>14.7</b>
2%	<b>33.0</b>	<b>14.0</b>	<b>31.7</b>	<b>12.9</b>
5%	<b>16.7</b>	<b>10.0</b>	<b>16.4</b>	9.4
10%	9.1	6.8	9.0	6.5
15%	6.3	5.1	6.2	5.0
20%	4.8	4.1	4.8	4.0
30%	3.2	3.0	3.2	3.0
40%	2.5	2.3	2.5	2.3
50%	2.0	1.9	2.0	1.9
60%	1.7	1.6	1.6	1.6
70%	1.4	1.4	1.4	1.4
80%	1.2	1.2	1.2	1.2
90%	1.1	1.1	1.1	1.1

**Table 3: Likelihood ratios of the absence of malaria when the parasite detection test is negative, according to the prevalence of infection in the general population, and to the sensitivity and specificity of the test for the detection of parasites. Clinically useful tests are in bolded type, tests of intermediate utility are in standard type, clinically unhelpful tests in italics**

Prevalence of infection in the general population	Sensitivity = 0.95		Sensitivity = 0.85	
	Spec. = 0.99	Spec. = 0.95	Spec. = 0.99	Spec. = 0.95
0%	<b>19.8</b>	<b>19.0</b>	6.6	6.3
0.1%	<b>19.8</b>	<b>19.0</b>	6.6	6.3
1%	<b>19.6</b>	<b>18.8</b>	6.5	6.2
2%	<b>19.4</b>	<b>18.6</b>	6.5	6.2
5%	<b>18.9</b>	<b>18.1</b>	6.3	6.1
10%	<b>17.9</b>	<b>17.2</b>	6.0	5.8
15%	<b>17.0</b>	<b>16.3</b>	5.8	5.5
20%	<b>16.0</b>	<b>15.4</b>	5.5	5.3
30%	<b>14.2</b>	<b>13.6</b>	4.9	4.7
40%	<b>12.3</b>	<b>11.8</b>	4.7	4.2
50%	<b>10.4</b>	<b>10.0</b>	3.8	3.7
60%	8.5	8.2	3.2	3.1
70%	6.6	6.4	2.7	2.6
80%	4.8	4.6	2.1	2.1
90%	2.9	2.8	1.6	1.5

considerably test performance. Whether sensitivity was modelled as 0.85 or as 0.95 was of little import for the likelihood ratios.

The impact of the prevalence of infection on the usefulness of a negative test was also notable (Table 3). The negative test remained clinically useful up to a prevalence of about 50%, as long as the sensitivity was high (0.95). However, even a negative test was not clinically useful

when the prevalence exceeded 70%, or if the sensitivity of the test was assumed to be 0.85.

**Impact of a higher threshold for a positive test**

Likelihood ratios of presence of malaria for a positive test improved when the diagnostic threshold was increased. If the change of threshold decreased sensitivity to 0.80 in patients with malaria and to 0.60 in patients with asymptomatic infection, a positive test was clinically useful up to

**Table 4: Likelihood ratios of positive test for presence of malaria if a high threshold is used to define a positive test. The sensitivity of the test is reduced, but less so for patients with malaria than for other infected individuals, and specificity is considered to be perfect (100%). Clinically useful tests are in bolded type, tests of intermediate utility are in standard type, clinically unhelpful tests in italics**

Prevalence of infection in the general population	Sensitivity of test in patients with malaria: 0.80. Sensitivity of test in other infected patients:	
	0.60	0.40
0%	<b>infinite</b>	<b>infinite</b>
0.1%	<b>1333</b>	<b>2000</b>
1%	<b>133</b>	<b>200</b>
2%	<b>67.7</b>	<b>100</b>
5%	<b>26.7</b>	<b>40.0</b>
10%	<b>13.3</b>	<b>20.0</b>
15%	8.9	<b>13.3</b>
20%	6.7	<b>10</b>
30%	4.4	6.7
40%	3.3	5.0
50%	2.7	4.0
60%	2.2	3.3
70%	1.9	2.9
80%	1.7	2.5
90%	1.5	2.2

a prevalence of infection of 10% (Table 4). If the sensitivities were 0.80 and 0.40, the test became useful up to a prevalence of 20%. In contrast, such a change of threshold virtually abolished the utility of a negative test. Even in the best case scenario (prevalence of 0%), the likelihood ratio of a negative test for absence of malaria was 5, and it was less than 5 in all other situations (detailed results not shown).

### Discussion

Globally, this analysis confirms that a positive parasite detection test is unhelpful in establishing the diagnosis of malaria in highly endemic areas [1], and defines a range of situations where a negative test is useful in excluding the diagnosis. Even in areas of intermediate prevalence of infection in the general population (20%–50%), a positive test for *Plasmodium* parasites in the blood does not establish the diagnosis of malaria. In such situations, the likelihood ratio is 5 or less, which will push the post-test probability of malaria above 90% only if the pre-test probability was already very high, greater than 70%. In highly endemic areas (>50%), a positive test is virtually meaningless, with likelihood ratios <2. While the general direction of these results is unsurprising, our study provides for the first time a definition of circumstances in which a parasite detection test is or is not useful for the diagnosis of malaria.

#### Positive parasite detection test

The likelihood ratio of a positive test depends strongly on the prevalence of infection in the general population, and is hardly influenced by the sensitivity or specificity of the test, within the range we considered. In fact, the formula for the likelihood ratio of a positive test ( $LR(+)_m$ ) implies that this ratio cannot exceed the inverse of the prevalence of infection (or  $1/x$ ), even if both sensitivity and specificity for the detection of parasites are a perfect 100%. For example, if half of the population is infected by *Plasmodium* parasites, the likelihood ratio cannot exceed 2. Consequently, if prevalence of infection is high, ruling in malaria cannot be improved much by the development of more sensitive parasite detection tests, such as those based on the polymerase chain reaction assays [9]. Therefore a positive *Plasmodium* detection test has little utility in populations where malaria is most frequent, as in Africa, where most of the burden of mortality and morbidity of malaria occurs [10].

Using a higher parasite density threshold to consider a test as positive may improve the value of a positive test [11]. This is because raising the threshold will reduce the sensitivity among patients who harbour parasites but do not have clinical malaria more than among patients with malaria. However, even this strategy will not extend the usefulness of the positive test beyond a prevalence of

asymptomatic infection greater than 20%. Furthermore, this strategy will invalidate the utility of a negative parasite detection test.

#### Negative parasite detection test

In contrast, the diagnostic contribution of the *negative* test varied considerably with the sensitivity of the test. When sensitivity was deemed equal to 0.95, the negative test produced high, clinically useful likelihood ratios up to a prevalence of infection of 70%, allowing the exclusion of malaria even in populations where *Plasmodium* infection is highly prevalent. On the other hand, when sensitivity was assumed to be only 0.85, the likelihood ratios of a negative test were lower, and exceeded 5 only up to a prevalence of asymptomatic infection of about 20%. Therefore the sensitivity of the *Plasmodium* detection test is critical for ruling out malaria in highly endemic populations. Ruling out malaria in patients with fever is important, to avoid unnecessary treatment with antimalarial drugs, which is common in highly endemic countries [1], and to provide appropriate etiologic treatment to the patients [12]. In this paper, we do not address the issue of malaria control at the population level, which may or may not include the treatment of asymptomatic carriers.

Good quality laboratory tests to rule out *Plasmodium* infection are therefore important, especially in highly endemic areas. Our estimates assumed rather high values of sensitivity and specificity of the parasite detection test. In precarious field conditions, these test properties may be worse [13,14]. Lower sensitivity would considerably reduce the clinical usefulness of a negative test. Unfortunately, given the insufficient quality of many field laboratories, the practical contribution of a *Plasmodium* detection test to the diagnosis of malaria is often limited [15].

#### Improving the diagnosis of malaria

Establishing the diagnosis of clinical malaria in endemic areas remains a challenge. As mentioned before, detection of *Plasmodium* infection in a patient presenting with a febrile acute illness is not a sufficient basis for the diagnosis. A useful contribution would be the identification of parameters, whether clinical variables or laboratory measurements, that distinguish patients who suffer from malaria from patients who have another febrile illness and merely harbour *Plasmodium* parasites. If clinical algorithms that yield a high enough pre-test probability of malaria were available, even a positive *Plasmodium* detection test associated with a modest likelihood ratio would help establish the diagnosis.

Several clinical algorithms have been proposed [16–20], but none seems sufficiently accurate as a basis for the diagnosis. A key difficulty in developing good diagnostic algo-

rithms is the lack of a gold standard for diagnosing malaria. One cannot aim at a target that remains invisible. Development of adequate technologies to diagnose malaria in endemic areas remains an important and difficult public health challenge.

The difficulty in establishing the diagnosis of malaria increases with the prevalence of infection. It is noteworthy that reliance on positive *Plasmodium* detection tests remains justified in patients whose probability of asymptomatic parasitic infection is low, such as among travellers [14]. More generally, the issue of malaria diagnosis explored in this paper illustrates the difficulty in transferring a technological solution that is well suited to the developed world to other contexts.

### Conclusion

In populations where the prevalence of *Plasmodium* infection is intermediate or high, a positive *Plasmodium* detection test does not help establish the diagnosis of malaria.

### Abbreviations

Sn: Sensitivity

Sp: Specificity

LR: Likelihood ratio

### Competing interests

The author(s) declare that they have no competing interests.

### Authors' contributions

TVP and AR proposed the study and the study design. All authors discussed the interpretation of the results. TVP developed the statistical models, analysed data, and wrote the first draft. AR and TS performed the literature review and revised the paper.

### Acknowledgements

None

### References

- Greenwood BM, Bojang K, Whitty CJ, Targett GA: **Malaria**. *Lancet* 2005, **365**:1487-98.
- Anonymous: **New perspectives. Malaria diagnosis**. Report of a Joint WHO/USAID Informal Consultation, 25–27 October 1999 2000 [[http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/malaria\\_diagnosis.pdf](http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/malaria_diagnosis.pdf)]. Geneva: World Health Organization
- Moody A: **Rapid diagnostic tests for malaria parasites**. *Clin Microbiol Rev* 2002, **15**:66-78.
- Delley V, Bouvier P, Breslow N, Doumbo O, Sagara I, Diakite M, Mauris A, Dolo A, Rougemont A: **What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali**. *Trop Med Int Health* 2000, **5**:404-12.
- Grimes DA, Schulz KF: **Refining clinical diagnosis with likelihood ratios**. *Lancet* 2005, **365**:1500-5.
- Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL: **Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B: What are the results and will they help me in caring for**

- my patients? The Evidence-Based Medicine Working Group**. *JAMA* 1994, **271**:703-707.
- Weissler AM: **A perspective on standardizing the predictive power of noninvasive cardiovascular tests by likelihood ratio computation: I. Mathematical principles**. *Mayo Clin Proc* 1999, **74**:1061-71.
- Simel DL, Holleman DR: **Should the definition for the negative likelihood ratio be changed?** *J Clin Epidemiol* 1997, **50**:641-2.
- Hänscheid T, Grobusch MP: **How useful is PCR in the diagnosis of malaria?** *Trends Parasitol* 2004, **18**:395-8.
- Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW: **The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future**. *Lancet Infect Dis* 2004, **4**:327-36.
- Boisier P, Jambou R, Raharimalala L, Roux J: **Relationship between parasite density and fever risk in a community exposed to a low level of malaria transmission in Madagascar highlands**. *Am J Trop Med Hyg* 2002, **67**:137-40.
- Reyburn H, Redempta M, Drakeley C, Carnero I, Mwakasungula E, Mwerinde O, Saganda K, Shao J, Kitua A, Olomi R, Greenwood BM, Whitty C: **Overdiagnosis of malaria in patients with severe febrile illness in Tanzania: a prospective study**. *BMJ* 2004, **329**:1212-15.
- Mason DP, Kawamoto F, Lin K, Laoboonchai A, Wongsrichanalai C: **A comparison of two rapid field immunochromatographic tests to expert microscopy in the diagnosis of malaria**. *Acta Trop* 2002, **82**:51-9.
- Marx A, Pewsner D, Egger M, Nuesch R, Bucher HC, Genton B, Hatz C, Jüni P: **Meta-analysis: accuracy of rapid tests for malaria in travelers returning from endemic areas**. *Ann Intern Med* 2005, **142**:836-46.
- Barat L, Chipipa J, Kolczak M, Sukwa T: **Does the availability of blood slide microscopy for malaria at health centers improve the management of persons with fever in Zambia?** *Am J Trop Med Hyg* 1999, **60**:1024-30.
- Chandramohan D, Jaffar S, Greenwood B: **Use of clinical algorithms for diagnosing malaria**. *Trop Med Int Health* 2002, **7**:45-52.
- Rougemont A, Breslow N, Brenner E, Moret AL, Dumbo O, Dolo A, Soula G, Perrin L: **Epidemiological basis for clinical diagnosis of childhood malaria in endemic zone in West Africa**. *Lancet* 1991, **338**:1292-5.
- Olaleye BO, Williams LA, D'Alessandro U, Weber MM, Mulholland K, Okorie C, Langerock P, Bennett S, Greenwood BM: **Clinical predictors of malaria in Gambian children with fever or a history of fever**. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998, **92**:300-4.
- Bojang KA, Obaro S, Morison LA, Greenwood BM: **A prospective evaluation of a clinical algorithm for the diagnosis of malaria in Gambian children**. *Trop Med Int Health* 2000, **5**:231-6.
- Luxemburger C, Nosten F, Kyle DE, Kiricharoen L, Chongsuphajaisidhi T, White NJ: **Clinical features cannot predict a diagnosis of malaria or differentiate the infecting species in children living in an area of low transmission**. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998, **92**:45-9.

### Pre-publication history

The pre-publication history for this paper can be accessed here:

<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/6/81/prepub>

## **ANNEXE 2 : contribution personnelle soumise à publication**

Le texte de l'annexe 2 représente notre contribution personnelle de terrain. Dans le cadre d'une enquête plus vaste, un échantillon de la population infantine étudiée a été tiré au hasard et prélevé à deux reprises dans la même journée afin de mettre en évidence les variations biologiques de la densité parasitaire périphérique observée à l'aide de la microscopie hématologique conventionnelle. De telles variations, d'amplitude considérable, avaient déjà été observées dans un suivi longitudinal de plusieurs jours chez des adultes jeunes de sexe masculin (Delley, V. et al, 2000). Ces observations mettent en question l'interprétation d'un seul examen sanguin à la recherche des hématozoaires ainsi que les efforts consentis pour améliorer de quelques pourcents la « précision » technique des examens.

**Variabilité nycthémérale de la densité des parasites du paludisme dans le sang périphérique chez des enfants de 2 – 12 ans dans une population rurale d’Afrique de l’Ouest.**

Thomas Szeless<sup>1</sup>, Nadia Elia<sup>1</sup> et André Rougemont<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de médecine sociale et préventive, Faculté de médecine, Université de Genève, CMU, CH-1211 Genève 4

## Résumé

Cette étude montre, en utilisant 3 approches différentes, pour un échantillon de 62 enfants âgés de 2-12 ans, dans un village rural du sud du Mali, que la densité des parasites du paludisme dans le sang périphérique varie dans des proportions largement supérieures à la précision des méthodes de comptage en laboratoire.

Ce travail confirme les observations faites précédemment chez des adultes de sexe masculin de la même collectivité.

La discussion porte sur les conséquences techniques, relative au diagnostic et à la prise en charge des patients fébriles ainsi que pour la santé publique du caractère instable de la mesure d'un paramètre hématologique généralement considéré comme le *gold standard* en matière de diagnostic du paludisme.

## Introduction

Afin de confirmer chez les enfants âgés de 2 à 12 ans la grande variabilité biologique nyctémérale de la parasitémie, on a utilisé un échantillon de 65 enfants, choisis au hasard dans une population de 1061. Deux mesures de la densité parasitaire ont été effectuées à 6 heures d'intervalle ( $t_1$  : 10h00-12h00 ;  $t_2$  : 16h00-18h00), en fin de saison sèche.

## Echantillon et méthodes

Les prélèvements ont été réalisés et interprétés par une seule et même équipe du *Laboratoire d'épidémiologie des affections parasitaires de la faculté de médecine de Bamako*. L'examen des lames a été réalisé à l'aide d'un microscope équipé d'un objectif à immersion (x100). L'estimation du rapport *nombre de parasites/nombre de leucocyte* est basée sur l'observation de 300 leucocytes par lame d'un frottis épais coloré au Giemsa. La densité parasitaire a été estimée sur la base d'une concentration moyenne de 7'500 leucocytes/mm<sup>3</sup> (nombre de parasites observés pour 300 leucocytes x 25). Le nombre minimum de parasites/mm<sup>3</sup> qu'il est ainsi possible de dénombrer sur une lame est donc de 25 parasites/mm<sup>3</sup> ; en-dessous de cette concentration, la lame est considérée comme « négative ».

Les résultats ont été obtenus en testant l'hypothèse (dite « nulle ») que les densités parasitaires mesurées à 6 heures d'intervalle chez un même enfant sont les mêmes. Nous la qualifions d'approche *continue*. Pour cela, nous avons utilisé un test statistique non paramétrique (*Wilcoxon matched-pairs signed.rank test*), appliqué aux valeurs des densités parasitaires observées. Le test nous dit selon quelle probabilité les différences observées entre  $t_1$  et  $t_2$  sont ou non dûes au hasard.

Nous avons également utilisé une approche *binaire* de l'interprétation des densités parasitaires mesurées (résultats considéré comme positif si  $> 25$  parasites/mm<sup>3</sup>) et une approche *catégorielle* (résultats classifiés en groupes de densité parasitaire: 0 ; 25-1'000 ; 1'000-10'000 ; 10'000-100'000). Finalement, nous avons illustré graphiquement l'amplitude des différences entre les deux densités parasitaires mesurées pour chaque enfant.

## Résultats

Trois échantillons s'étant révélés ininterprétables, l'analyse a porté sur 62 enfants.

### Approche continue

Au temps  $t_1$ , les densités parasitaires estimées varient de 0 à 78'900 parasites/mm<sup>3</sup> (médiane : 125). Six heures plus tard, elles varient de 0 à 41'400 parasites/mm<sup>3</sup> (médiane : 0). Les distributions des densités parasitaires ne sont pas gaussiennes (moyenne  $\neq$  médiane, écart type > moyenne, même après exclusion des 23 enfants dont la densité parasitaire était nulle lors des 2 prélèvements) (Tableau 1).

Le test non-paramétrique utilisé quantifie la probabilité que l'hypothèse nulle : « les densités parasitaires mesurées à  $t_1$  sont équivalentes à celles mesurées à  $t_2$  », soit juste. On trouve une probabilité < 3%, ce qui nous permet de rejeter l'hypothèse nulle (Tableau 1). Les densités parasitaires mesurées à  $t_2$  sont significativement différentes (plus basses) que celles mesurées à  $t_1$ .

	<b>Parasitémie t1</b>		<b>Parasitémie t2</b>	
	<b>62</b>	<b>39</b>	<b>62</b>	<b>39</b>
<b>n</b>	62	39	62	39
<b>moyenne</b>	3'923	6'236	2'507	3'986
<b>écart-type</b>	13'704	16'930	8'078	9'936
<b>médiane</b>	125	700	0	225
<b>min</b>	0	0	0	0
<b>max</b>	78'900	78'900	41'400	41'400
<b>Wilcoxon's z</b>	2.500	2.114		
<b>p</b>	0.0124	0.0345		

n=62 comprend l'ensemble des enfants; n=39 après exclusion des enfants avec parasitémies nulles à 2 reprises. t1: prélèvement entre 10h00-12h00; t2: entre 16h00-18h00. Le test non paramétrique de Wilcoxon teste l'hypothèse que les densités parasitaires mesurées à t1 et t2 sont équivalentes. P<0.05 nous permet de rejeter cette hypothèse.

Parce que la distribution des densité parasitaires n'est pas gaussienne, leur représentation graphique aux temps  $t_1$  et  $t_2$ , se fait sur une échelle logarithmique (Figure 1). Si les densités parasitaires étaient semblables aux temps  $t_1$  et  $t_2$ , tous les points se trouveraient sur la ligne d'égalité. Ce graphique suggère que les densités parasitaires mesurées à  $t_1$  tendent à être plus élevées que celles mesurées à  $t_2$ .

### Distribution des charges parasitaires mesurées à 6 heures d'intervalle chez 62 enfants

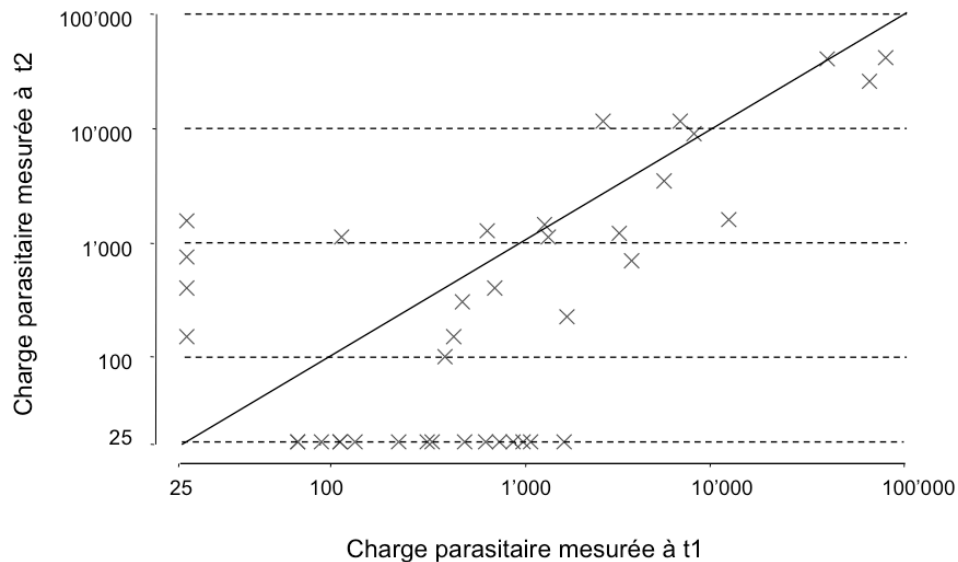


Figure 1: charges parasitaires mesurées à  $t_1$  et  $t_2$  ( $=t_1+6h$ ). La densité parasitaire a été estimée à partir d'un nombre moyen de 7'500 leucocytes/mm<sup>3</sup>; la limite de détection est de 25 parasites/mm<sup>3</sup> de sang. 23 enfants présentaient une densité parasitaire estimée entre 0-25 parasites/mm<sup>3</sup> à  $t_1$  et  $t_2$ , et ne sont pas représentés sur ce graphique.

## Approche binaire

Toutes les densités parasitaires « non-nulles » sont considérées comme *positives*, les autres comme *négatives*.

23 enfants (37% de l'échantillon) présentent des densités parasitaires *négatives* à deux reprises alors que 19 (31%) présentent des densités parasitaires *positives* à deux reprises. 16 (26%) présentent une densité parasitaire positive à  $t_1$ , mais négative à  $t_2$  et 4 (6%) présentent une densité parasitaire négative à  $t_1$ , mais positive à  $t_2$ .

Le test de *khi carré* (1 degré de liberté) confirme que même par une approche binaire de l'interprétation des densités parasitaires, la lecture à  $t_2$  n'est pas la même qu'à  $t_1$ .

(Tableau 2)

Densité parasitaire		n	% (intervalle de confiance 95% )
t0	t1		
negative	negative	23	37% (25% to 50%)
positive	positive	19	31% (20% to 44%)
positive	negative	16	26% (15% to 38%)
negative	positive	4	6% (2% to 16%)
		62	100%

Parmi les 31% d'enfants « positifs » à deux reprises, la différence entre les densités parasitaires mesurées à  $t_1$  et à  $t_2$  varie de -8'725 à +39'850 parasite/mm<sup>3</sup> (médiane : 325). Parmi les 26% des enfants qui présentent une densité parasitaire positive au temps  $t_1$  et négative au temps  $t_2$ , la différence de densité parasitaire mesurée entre les deux temps varie de 75 à 1'775 parasite/mm<sup>3</sup> (médiane : 362.5). Enfin parmi les quatre enfants qui présentent une densité parasitaire négative à  $t_1$  et positive à  $t_2$ , l'amplitude de la variation varie entre -150 et -1'550 parasites/mm<sup>3</sup> (médiane : -575).

### Approche catégorielle

Ici, les densités parasitaires sont classées en 4 catégories : 0, 25-1'000, 1'000-10'000 et de 10'000 à 100'000 (Tableau 3).

		<b>t0</b>			
<b>Densités parasitaires</b>		<b>0</b>	<b>25-1'000</b>	<b>1'000-10'000</b>	<b>10'000-100'000</b>
<b>t1</b>	<b>0</b>	23	13	3	0
	<b>25-1'000</b>	3	4	2	0
	<b>1'000-10'000</b>	1	2	5	1
	<b>10'000-100'000</b>	0	0	2	3
<b>changement de catégorie % (IC95%)</b>		15 (4 to 34)	79 (54 to 94)	58 (28 to 85)	25 (1 to 81)
<b>densité négative à t2 % (IC95%)</b>		--	68 (43 to 87)	25 (5 to 57)	0
IC 95%: intervalle de confiance de 95%					

Au temps  $t_1$ , 27 enfants (44%) ont une densité parasitaire nulle, 19 (31%) entre 25 et 1'000, 12 (19%) entre 1'000 et 10'000, et 4 (6%) entre 10'000 et 100'000.

Au temps  $t_2$ , 39 enfants (63%) ont une densité parasitaire nulle, 9 (14.5%) entre 25 et 1'000, 9 (14.5%) entre 1'000 et 10'000, et 5 (8%) entre 10'000 et 100'000.

Une autre façon de lire ce tableau est la suivante. Parmi les 43 enfants ayant au moins une densité parasitaire nulle (à  $t_1$  ou  $t_2$ ), seuls 23 (53%) sont confirmés par une seconde densité parasitaire nulle. Parmi les 24 enfants ayant une densité parasitaire de 25-1000 parasite/mm<sup>3</sup> ( $t_1$  ou  $t_2$ ), seuls 4 (17%) présentent cette catégorie de valeur à deux reprises. Parmi les 16 enfants ayant une densité parasitaire comprise de 1'000 - 10'000 ( $t_1$  ou  $t_2$ ), seuls 5 (31%) présentent cette valeur à 2 reprises. Enfin, des 6 enfants avec densité parasitaire de 10'000-100'000 ( $t_1$  ou  $t_2$ ), seul 3 (50%) présentent cette valeur à deux reprises. Les densités parasitaires mesurées à 6 heures d'intervalle changent de catégorie dans (27/62) 43% des cas.

## VIII

Le tableau 4 illustre la distribution des différences entre les densités parasitaires mesurées à  $t_1$  et celle mesurée à  $t_2$ .

<b>Tableau 4: Distribution des enfants selon l'amplitude des différences de densités parasitaires mesurées entre <math>t_1</math> et <math>t_2</math></b>						
		<b>n</b>	<b>(%)</b>	<b>médiane</b>	<b>min</b>	<b>max</b>
<b>Amplitude des différences de densités parasitaires mesurées entre <math>t_1</math> et <math>t_2</math></b>	<b>-10'000 à -1'000</b>	3	5%	-4'625	-1'500	-8'725
	<b>-1'000 à -100</b>	7	11%	-750	-150	-1'000
	<b>-100 à 0</b>	1	2%	-50		
	<b>0 à 100</b>	25	40%	0	0	75
	<b>100 à 1'000</b>	16	26%	325	100	975
	<b>1'000 à 10'000</b>	7	11%	1'175	1'110	3'200
	<b>10'000 à 100'000</b>	3	5%	37'500	10'700	39'750

Une différence négative représente une parasitémie à  $t_2$  plus élevée qu'à  $t_1$ , alors qu'une différence positive représente une parasitémie à  $t_2$  plus basse qu'à  $t_1$ . Les médianes (min, max) décrivent la distribution des ces différences par catégories.

### Approche graphique

Ici la stratégie consiste à considérer que la meilleure évaluation de la charge parasitaire réelle de chaque enfant soit représentée par la moyenne des 2 mesures successives. On représente alors graphiquement la moyenne des deux densités parasitaires mesurées chez chaque enfant, par rapport à la différence de ces deux valeurs mesurées chez cet enfant entre les temps  $t_1$  et  $t_2$ . Comme nos données ne se distribuent pas de façon gaussienne, les densités parasitaires sont tout d'abord transformées en valeurs ln. (Figure 2)

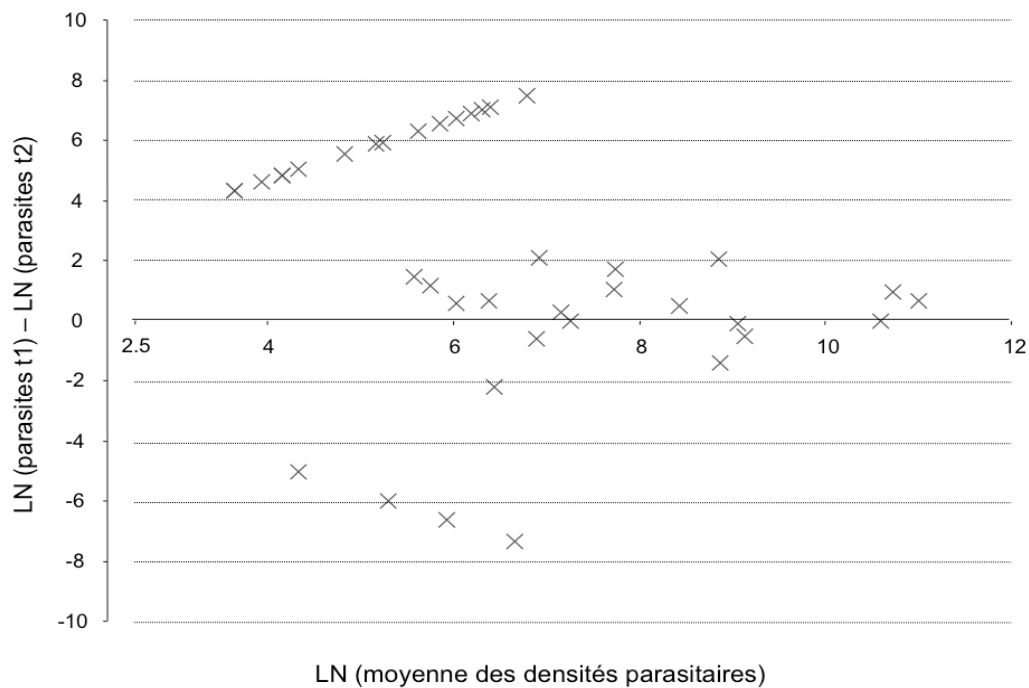


Figure 2: Représentation graphique de l'amplitude des variations de densités parasitaires mesurées à  $t_1$  et  $t_2$  chez 62 enfants. La densité parasitaire a été estimée à partir d'un nombre moyen de 7'500 leucocytes/mm<sup>3</sup>; la limite de détection est de 25 parasites/mm<sup>3</sup> de sang. 23 enfants présentaient une densité parasitaire estimée entre 0-25 parasites/mm<sup>3</sup> et ne sont pas représentés sur ce graphique.

*Interprétation du graphique :*

Si les deux mesures de densités parasitaires sont équivalentes, on s'attend à trouver que :

$$\text{Moyenne des } (\ln(\text{parasit1}) - \ln(\text{parasit2})) = 0.$$

Dans notre cas,

$$\text{Moyenne des } ((\ln(\text{parasit1}) - \ln(\text{parasit2})) = \ln \frac{\text{parasit1}}{\text{parasit2}} = 1.23$$

(écart type : 3.27)

D'où l'on tire que,

$$\text{Moyenne } \left( \frac{\text{parasit1}}{\text{parasit2}} \right) = e^{1.23} = 3.4$$

Les densités parasitaires mesurées à  $t_2$  sont, en moyenne, 3.4 fois plus faibles que celles mesurées à  $t_1$ . Chez 95% des enfants, la différence entre les densités parasitaires mesurées à  $t_1$  et  $t_2$  se situe à deux écart-type de part et d'autre de la moyenne.

Dans notre cas,

$$\text{Limite inférieure} = e^{1.23 - (2 \times 3.3)} = e^{-5.31} = 0.005$$

$$\text{Limite supérieure} = e^{1.23 + (2 \times 3.3)} = e^{7.77} = 2'368$$

Donc,

$$\text{Le rapport } \frac{\text{parasit1}}{\text{parasit2}} \text{ est compris entre } 0.005 \text{ et } 2'368$$

Autrement dit, pour environ 95% des enfants, la densité parasitaire mesurée au temps  $t_1$  varie entre  $1/0.005=200$  fois plus basse, et  $2'400$  fois plus élevée que celle mesurée à  $t_2$ .

## Discussion

Les variations de la densité parasitaire lors de deux mesures réalisées à six heures d'intervalle chez des enfants de 2 – 12 ans sont considérables, quelle que soit l'approche analytique adoptée (*continue, catégorielle, binaire*). Cela avait été précédemment montré chez des adultes de sexe masculin dans le même contexte (Delley, V. *et al*, 2000). Plusieurs conclusions peuvent être tirées de ces observations: a) les quelques pourcent de précision que l'on peut gagner en perfectionnant les techniques « post-prélèvement » n'apportent aucun bénéfice à la précision du diagnostic de l'infection plasmodiale, du fait que b) le moment où est réalisé le prélèvement représente l'élément le plus déterminant pour la densité parasitaire obtenue. Comme relevé précédemment, c) un seul prélèvement réalisé chez un patient donné n'est jamais suffisant pour estimer valablement la densité parasitaire dans le sang capillaire périphérique, cette dernière valeur ne représentant par ailleurs que très approximativement la charge parasitaire totale du patient considéré. Dans le contexte peu fréquent où la densité parasitaire périphérique d'un patient devrait être établie avec une certaine précision, plusieurs prélèvements quotidiens sont donc indispensables. A notre connaissance, une telle procédure n'est jamais appliquée ni dans la pratique, ni dans la recherche, de même que jamais la variabilité d'une valeur fournie par le laboratoire n'est indiquée, en dépit du fait que le dénombrement des parasites se fait en référence à une densité moyenne arbitraire des leucocytes, identique pour tous les patients dans un contexte donné. Cet élément (la variabilité nyctémérale de la densité parasitaire observée à la périphérie), ajouté aux nombreuses autres sources d'imprécisions discutées dans la thèse, montrent à l'évidence que le « laboratoire du paludisme », en dépit de son caractère spécifique et quantitatif, reste le maillon faible du diagnostic de l'infection plasmodiale et de la maladie palustre ; des alternatives au développement des équipements de laboratoire, coûteux et d'une maintenance difficile, y sont proposées pour établir le diagnostic d'un accès palustre.

## Référence

Delley, V., Bouvier, P., Breslow, N., Doumbo, O., Sagara, I., Diakite, M., Mauris, A., Dolo, A. and Rougemont, A. What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali (2000) 5, 404-412

**Author's summary:** Temporal variations of blood parasite density were evaluated in a longitudinal study of young, asymptomatic men in a village with endemic malaria in Mali (West Africa). Our main intention was to challenge the value of a single measure of parasite density for the diagnosis of malaria, and to define the level of endemicity in any given area. Parasitaemia and body temperature were recorded three times a day in the wet season (in 39 subjects on 12 days) and in the dry season (in 41 subjects on 13 days). Two thousand nine hundred and fifty seven blood smears (98.5% of the expected number) were examined for malaria parasites. We often found 100-fold or greater variations in parasite density within a 6-hour period during individual follow-up. All infected subjects had frequent negative smears. Although fever was most likely to occur in subjects with a maximum parasite density exceeding 10000 parasites/mm<sup>3</sup> ( $P = 0.009$ ), there was no clear relationship between the timing of these two events. Examples of individual profiles for parasite density and fever are presented. These variations (probably due to a 'sequestration-release' mechanism, which remains to be elucidated) lead us to expect a substantial impact on measurements of endemicity when only a single sample is taken. In this study, the percentage of infected individuals varied between 28.9% and 57.9% during the dry season and between 27.5% and 70.7% during the wet season. The highest rates were observed at midday, and there were significant differences between days. Thus, high parasite density sometimes associated with fever can no longer be considered as the gold standard in the diagnosis of malaria. Other approaches, such as decision-making processes involving clinical, biological and ecological variables must be developed, especially in highly endemic areas where Plasmodium infection is the rule rather than the exception and the possible causes of fever are numerous: Temporal variations of blood parasite density were evaluated in a longitudinal study of young, asymptomatic men in a village with endemic malaria in Mali (West Africa). Our main intention was to challenge the value of a single measure of parasite density for the diagnosis of malaria, and to define the level of endemicity in any given area. Parasitaemia and body temperature were recorded three times a day in the wet season (in 39 subjects on 12 days) and in the dry season (in 41 subjects on 13 days). Two thousand nine hundred and fifty seven blood smears (98.5% of the expected number) were examined for malaria parasites. We often found 100-fold or greater variations in parasite density within a 6-hour period during individual follow-up. All infected subjects had frequent negative smears. Although fever was most likely to occur in subjects with a maximum parasite density exceeding 10000 parasites/mm<sup>3</sup> ( $P = 0.009$ ), there was no clear relationship between the timing of these two events. Examples of individual profiles for parasite density and fever are presented. These variations (probably due to a 'sequestration-release' mechanism, which remains to be elucidated) lead us to expect a substantial impact on measurements of endemicity when only a single sample is taken. In this study, the percentage of infected individuals varied between 28.9% and 57.9% during the dry season and between 27.5% and 70.7% during the wet season. The highest rates were observed at midday, and there were significant differences between days. Thus, high parasite density sometimes associated with fever can no longer be considered as the gold standard in the diagnosis of malaria. Other approaches, such as decision-making processes involving clinical, biological and ecological variables must be developed, especially in highly endemic areas where Plasmodium infection is the rule rather than the exception and the possible causes of fever are numerous.

### **ANNEXE 3 : références avec résumé d'auteur**

S. Abdalla, D. J. Weatherall, S. N. Wickramasinghe and M. Hughes. The anaemia of *P. falciparum*. *Br.J.Haematol.* 1980 /10/;46(2):171-183.

The haematological changes in a group of young Gambian children with *P. falciparum* malaria have been analysed. In children with acute infection anaemia was most marked during the period after treatment. Although many of these patients developed a positive direct Coombs test during this period of the illness it is not clear whether the anaemia which occurs after treatment has an immune basis. A second group of children showed quite different haematological findings. They appear to have a more chronic form of *P. falciparum* malaria infection, were profoundly anaemic at presentation, showed gross dyserythropoietic changes in their bone marrows, and had a full reticulocyte response and rise in haemoglobin after treatment. A third group of children were encountered whose haematological abnormalities were intermediate to those of the acute and chronic groups. These findings indicate that the patho-physiological mechanisms responsible for the anaemia of *P. falciparum* malaria are different at different stages of the illness

S. Abdullah, K. Adazu, H. Masanja, D. Diallo, A. Hodgson, E. Ilboudo-Sanogo, A. Nhacolo, S. Owusu-Agyei, R. Thompson, T. Smith and F. N. Binka. Patterns of age-specific mortality in children in endemic areas of sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Dec;77(6 Suppl):99-105.

Understanding of the age- and season- dependence of malaria mortality is an important prerequisite for epidemiologic models of malaria immunity. However, most studies of malaria mortality have aggregated their results into broad age groups and across seasons, making it hard to predict the likely impact of interventions targeted at specific age groups of children. We present age-specific mortality rates for children aged < 15 years for the period of 2001-2005 in 7 demographic surveillance sites in areas of sub-Saharan Africa with stable endemic *Plasmodium falciparum* malaria. We use verbal autopsies (VAs) to estimate the proportion of deaths by age group due to malaria, and thus calculate malaria-specific mortality rates for each site, age-group, and month of the year. In all sites a substantial proportion of deaths (ranging from 20.1% in a Mozambican site to 46.2% in a site in Burkina Faso) were attributed to malaria. The overall age patterns of malaria mortality were similar in the different sites. Deaths in the youngest children (< 3 months old) were only rarely attributed to malaria, but in children over 1 year of age the proportion of deaths attributed to malaria was only weakly age-dependent. In most of the sites all-cause mortality rates peaked during the rainy season, but the strong seasonality in malaria transmission in these sites was not reflected in strong seasonality in the proportion of deaths attributed to malaria, except in the two sites in Burkina Faso. Improvement in the specificity of malaria verbal autopsies would make it easier to interpret the age and season patterns in such data.

T. O. Abuya, W. Mutemi, B. Karisa, S. A. Ochola, G. Fegan and V. Marsh. Use of over-the-counter malaria medicines in children and adults in three districts in Kenya: implications for private medicine retailer interventions. *Malar J.* 2007;6:57.

**BACKGROUND:** Global malaria control strategies highlight the need to increase early uptake of effective antimalarials for childhood fevers in endemic settings, based on a presumptive diagnosis of malaria in this age group. Many control programmes identify private medicine sellers as important targets to promote effective early treatment, based on reported widespread inadequate childhood fever treatment practices involving the retail sector. Data on adult use of over-the-counter (OTC) medicines is limited. This study aimed to assess childhood and adult patterns of OTC medicine use to inform national medicine retailer programmes in Kenya and other similar

settings. METHODS: Large-scale cluster randomized surveys of treatment seeking practices and malaria parasite prevalence were conducted for recent fevers in children under five years and recent acute illnesses in adults in three districts in Kenya with differing malaria endemicity. RESULTS: A total of 12, 445 households were visited and data collected on recent illnesses in 11, 505 children and 19, 914 adults. OTC medicines were the most popular first response to fever in children with fever (47.0%; 95% CI 45.5, 48.5) and adults with acute illnesses (56.8%; 95% CI 55.2, 58.3). 36.9% (95% CI 34.7, 39.2) adults and 22.7% (95% CI 20.9, 24.6) children using OTC medicines purchased antimalarials, with similar proportions in low and high endemicity districts. 1.9% (95% CI 0.8, 4.2) adults and 12.1% (95% CI 16.3,34.2) children used multidose antimalarials appropriately. Although the majority of children and adults sought no further treatment, self-referral to a health facility within 72 hours of illness onset was the commonest pattern amongst those seeking further help. CONCLUSION: In these surveys, OTC medicines were popular first treatments for fever in children or acute illnesses in adults. The proportions using OTC antimalarials were similar in areas of high and low malaria endemicity. In all districts, adults were more likely to self-treat with OTC antimalarial medicines than febrile children were to receive them, and less likely to use them in recommended ways. Government health centres were the most common second resort for treatment and were often used within 72 hours. In view of these practices, more research is needed to assess the impact on the popularity of private medicine sellers of strengthened public sector policies on access to malaria treatment and insecticide-treated bed nets. Improved targeting of OTC antimalarials to high risk groups, better communication strategies regarding adult as well as children's dosages, and facilitating more rapid referral to trained health workers where needed are important challenges to private medicine seller programmes.

E. A. Afari, T. Nakano, F. Binka, S. Owusu-Agyei and J. Asigbee. Seasonal characteristics of malaria infection in under-five children of a rural community in southern Ghana. *West Afr J Med.* 1993 Jan-Mar;12(1):39-42.

In a quarterly survey of malaria infection in the under-five children conducted at Gomoa Onyadze/Otsew Jukwa, a rural community in the Central Region of Ghana from December, 1986 to September, 1987, crude parasite rates ranged from 19.6 to 33.5 per cent in the dry season (December and March) and 33.0 to 44.0 per cent in the wet season (June and September). *P. falciparum* was the predominant parasite species by parasite formula analysis with higher rates in the rainy season (94.2 to 95.8 per cent) compared to that of the dry season (51.4 to 78.8 per cent). *P. malariae* (20.4 per cent), *P. ovale* (2.7 per cent) and mixed infection rates were higher in the dry season (December and March). As high as 30.4 to 44.8 per cent of positive parasite slides had parasite density of above 3200 per microliter of blood (above class 6 degree of parasitaemia). Depending on the season 7.2-27.3 per cent of children had parasite density above 25,600 per microliter of blood (above class 10 degree of parasitaemia).

P. L. Alonso, S. W. Lindsay, S. Armstrong, Jr., K. Keita, P. Gomez, F. C. Shenton, A. G. Hill, P. H. David, G. Fegan, K. Cham and . 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.* 1993/06/87 Suppl 2:37-44.

The effects of insecticide-impregnated bed nets on mortality and morbidity from malaria have been investigated during one malaria transmission season in a group of rural Gambian children aged 6 months to 5 years. Sleeping under impregnated nets was associated with an overall reduction in mortality of about 60% in children aged 1-4 years. Mortality was not reduced further by chemoprophylaxis with Maloprim given weekly by village health workers throughout the rainy season. Episodes of fever associated with malaria parasitaemia were reduced by 45% among

children who slept under impregnated nets. The addition of chemoprophylaxis provided substantial additional benefit against clinical attacks of malaria; 158 episodes were recorded among 946 children who slept under impregnated nets but who also received chemoprophylaxis. Chemoprophylaxis reduced the prevalence of splenomegaly and parasitaemia at the end of the malaria transmission season by 63% and 83% respectively. Thus, insecticide-impregnated bed nets provided significant protection in children against overall mortality, mortality attributed to malaria, clinical attacks of malaria, and malaria infection. The addition of chemoprophylaxis provided substantial additional protection against clinical attacks of malaria and malaria infection but not against death

P. L. Alonso, M. Tanner, T. Smith, R. J. Hayes, J. A. Schellenberg, M. C. Lopez, I. Bastos de Azevedo, C. Menendez, E. Lyimo, N. Weiss and et al. A trial of the synthetic malaria vaccine SPf66 in Tanzania: rationale and design. *Vaccine*. 1994 Feb;12(2):181-6.

The development of a safe, affordable and effective malaria vaccine to form part of control schemes in malaria endemic countries is a priority for researchers and public health officials. SPf66 is the first malaria vaccine to have shown partial protection against natural challenge in a phase III trial carried out in a hypoendemic area of Colombia. This paper describes the rationale and design of the first field trial of SPf66 outside South America, and the first to be conducted in an area of high perennial transmission.

G. M. Arora S, Arora A. Role of the Parasight-F test in the diagnosis of complicated *Plasmodium falciparum* malarial infection. *Braz J Infect Dis*. 2003;Oct;7(5)(Jan 22):332-8.

An evaluation was made of the diagnostic efficacy and utility of the Parasight-F test in diagnosing *Plasmodium falciparum* malaria, compared with conventional microscopy, particularly in severe and complicated cases. This study was designed as a prospective, case control hospital-based study. Febrile patients suspected to be suffering from malaria were selected randomly and were subjected to peripheral smear examinations (thick and thin) and Parasight-F tests till the required number of at least 30 cases of *P. falciparum* infection were identified, including at least 15 complicated cases. In addition 20 cases of *P. vivax* malarial infection as well as 20 healthy age and sex-matched individuals were taken as two control groups. The outcome measure was the number of cases with positive Parasight-F test results compared with conventional microscopy. Thirty-two patients with *P. falciparum* malaria were identified, with 15 severe and complicated cases. Peripheral smears were positive in 29 (91%) of these, while parasight-F test was positive in 31 out of 32 (97%) cases. Parasites were detected only by bone marrow examination in one case. Diagnostic sensitivity and specificity of peripheral smears for detecting falciparum infection were 90.6% and 100% respectively while that of the Parasight-F test were 96.8% and 100%, respectively ( $P > .05$ ). The Parasight-F test has high sensitivity and specificity in diagnosing *P. falciparum* malarial infection, comparable to or even higher than microscopy exams, particularly in severe and complicated cases, with additional advantages of speed, simplicity and objectivity.

H. A. Babiker. Unstable malaria in Sudan: the influence of the dry season. *Plasmodium falciparum* population in the unstable malaria area of eastern Sudan is stable and genetically complex. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg*. 1998 /11/;92(6):585-589.

This paper reviews surveys carried out, over a period of 6 years between 1989 and 1995, to examine *Plasmodium falciparum* population structure in Asar village in eastern Sudan, an area of unstable malaria, the incidence of which is confined to a few weeks following the short rainy

season (June-October). The first phase of the study involved regular cross sectional surveys, between 1989 and 1993 during the seasons of malaria incidence, while the second involved surveys during the malaria-free months of the dry seasons. The parasites were examined for 20 polymorphic loci, including enzyme electrophoretic variants, proteins detected by 2 dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, antigens detected by monoclonal antibodies, and in vitro responses to antimalarial drugs. In addition, alleles of the polymorphic genes for merozoite surface proteins 1 and 2 (MSP-1, MSP-2) were examined using the polymerase chain reaction and oligonucleotide probes. Great genetic complexity was observed among the parasites which appeared during the short transmission seasons. A large proportion of the patients who were infected during the transmission season maintained asymptomatic, subpatent parasitaemias throughout the subsequent dry season, often as genetically complex infections

H. A. Babiker, A. M. Abdel-Muhsin, L. C. Ranford-Cartwright, G. Satti and D. Walliker. Characteristics of Plasmodium falciparum parasites that survive the lengthy dry season in eastern Sudan where malaria transmission is markedly seasonal. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1998/10/;59(4):582-590.

We have examined 83 inhabitants of Asar village in eastern Sudan, where malaria transmission lasts approximately 2-3 months each year, for the presence of Plasmodium falciparum during the prolonged dry season. All patients were treated with a standard dose of chloroquine following the first diagnosis, then examined by microscopy and the polymerase chain reaction (PCR) every two weeks for the first two months and subsequently once each month for the next 15 months throughout the dry season until the following transmission season. The PCR primers used amplified polymorphic regions of the merozoite surface protein-1 (MSP-1), MSP-2, and glutamate-rich protein genes. Results show that subpatent and asymptomatic parasitemias persisted in some patients for several months throughout the dry season, often as genetically complex infections. Different genotypes could coexist together in a single infection and the proportions of each could fluctuate dramatically during this period. However, in some individuals, single genotypes appeared to persist for several months. Reappearance of clinical symptoms among patients with chronic infections was often associated with appearance of new alleles, indicating reinfections with parasites of novel genotypes

L. Barat, J. Chipipa, M. Kolczak and T. Sukwa. Does the availability of blood slide microscopy for malaria at health centers improve the management of persons with fever in Zambia? *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999 /06/60(6):1024-1030.

Some Ministries of Health in Africa plan to make blood slide microscopy available in peripheral health centers to improve malaria diagnosis over the current practice, which relies solely on clinical findings. To assess whether microscopy improves the management of febrile persons in health centers, we prospectively reviewed medical records of all outpatients visiting six health centers with laboratories in Zambia during a 2-3-day period. Staff interviews and a blinded review of a series of blood slides from each facility by two expert microscopists were also conducted. Of 1,442 outpatients, 655 (45%) reported fevers or had a temperature  $\geq 37.5$  degrees C. Blood slide microscopy was ordered in 28-93% of patients with fever (mean = 46%). Eighty-eight (35%) patients without parasitemia were prescribed an antimalarial drug. Antimalarial drugs were prescribed with equal frequency to those who were referred for a blood slide (56%) and those not referred (58%). The sensitivity of microscopy was 88% and the specificity was 91%. Use of malaria microscopy varied widely, indicating that clinicians are not using standard criteria for ordering this test. Although diagnosis by microscopy was generally accurate, it appeared to have had little impact on the treatment of persons with fever. Guidelines for using blood slide microscopy are

needed and prescription of antimalarial drugs should be discouraged when slide results are negative.

P. Bi, S. Tong, K. Donald, K. A. Parton and J. Ni. Climatic variables and transmission of malaria: a 12-year data analysis in Shuchen County, China. *Public Health Rep.* 2003 Jan-Feb;118(1):65-71.

**OBJECTIVE:** The objective of this study was to explore the impact of climate variability on the transmission of malaria, a vector-borne disease, in a county of China and provide suggestions to similar regions for disease prevention. **METHODS:** A time-series analysis was conducted using data on monthly climatic variables and monthly incidence of malaria in Shuchen County, China, for the period 1980-1991. **RESULTS:** Spearman's correlation analysis showed that monthly mean maximum and minimum temperatures, two measures of monthly mean relative humidity, and monthly amount of precipitation were positively correlated with the monthly incidence of malaria in the county. Regression analysis suggested that monthly mean minimum temperature and total monthly rainfall, with a one-month lagged effect, were significant climatic variables in the transmission of malaria in Shuchen County. Seasonality was also significant in the regression model and there was a declining secular trend in the incidence of malaria. **CONCLUSION:** The results indicate that climatic variables should be considered as possible predictors for regions with similar geographic, climatic, and socioeconomic conditions to those of Shuchen County.

P. B. Bloland, D. A. Boriga, T. K. Ruebush, J. B. McCormick, J. M. Roberts, A. J. Oloo, W. Hawley, A. Lal, B. Nahlen and C. C. Campbell. Longitudinal cohort study of the epidemiology of malaria infections in an area of intense malaria transmission II. Descriptive epidemiology of malaria infection and disease among children. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999/04;60(4):641-648.

A large-scale longitudinal cohort project was initiated in western Kenya in June 1992. Between June 1992 and July 1994, 1,848 children less than 15 years of age were monitored prospectively for a mean of 236 days. During this period, 12,035 blood smears were examined for malaria and only 34% were found to be negative. Parasite prevalence (all species) decreased with age (from a high of 83% among children 1-4 years old to 60% among children 10-14 years old). Even more dramatic decreases were noted in the prevalence of high density falciparum infection (from 37% among children 12-23 months old to < 1% among 10-14-year-old children) and in clinical malaria (20% to 0.3% in the same age groups). Children < 1 year of age accounted for 55% of all cases of anemia detected. Anemia was consistently associated with high density infection in children < 10 years of age (20% to 210% increased risk relative to a parasitemic children). These results demonstrate the relationship between high-density malaria infection and two clinical manifestations of malarial illness

P. B. Bloland, T. K. Ruebush, J. B. McCormick, J. Ayisi, D. A. Boriga, A. J. Oloo, R. Beach, W. Hawley, A. Lal, B. Nahlen, V. Udhayakumar and C. C. Campbell. Longitudinal cohort study of the epidemiology of malaria infections in an area of intense malaria transmission I. Description of study site, general methodology, and study population. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999 /04;60(4):635-640.

A large-scale longitudinal cohort project was initiated in western Kenya in June 1992. The primary purpose of the project was to study *Plasmodium falciparum* malaria in a highly endemic area using a comprehensive and multidisciplinary approach, which included epidemiology, entomology, and

immunology. Between June 1992 and July 1994, pregnant women living in 15 rural villages were identified during a monthly census and 1,164 were enrolled. The women were followed-up throughout their pregnancy and they, along with their newborn infants and direct siblings of the infants' less than 15 years of age, were monitored over time. As of May 1995, 1,017 infants had been born to these women. This paper presents the design and general methodology used in this study and describes the initial experience with intense monitoring of a large population over a prolonged period.

P. Boisier, R. Jambou, L. Raharimalala and J. Roux. Relationship between parasite density and fever risk in a community exposed to a low level of malaria transmission in Madagascar highlands. *Am J Trop Med Hyg.* 2002 Aug;67(2):137-40.

To establish a simple definition of a malaria attack based on blood parasite density and other explanatory covariates, a cohort study was conducted from 1993 to 1996 in the Madagascar highlands undergoing a low seasonal transmission of falciparum malaria. Using logistic regression, the explanatory variables found to be significantly related to the risk of fever are parasite density, age, season, and year. However, and in contrast with other studies, we found no evidence of a clear cutoff in parasite density values consistent with the concept of "pyrogenic threshold" despite a gradual increase of the risk of fever with increasing parasite density. Furthermore, the model evidenced an individual-dependent relationship at a given age. This point was in accordance with the immunological data recorded from the participants. The investigators conclude that the parasite density to distinguish malaria attacks from other causes of fever is not reliable in a context of low falciparum transmission.

K. A. Bojang, S. Obaro, L. A. Morison and B. M. Greenwood. A prospective evaluation of a clinical algorithm for the diagnosis of malaria in Gambian children. *Trop.Med.Int Health.* 2000/04/5(4):231-236.

Diagnosis of clinical malaria remains difficult, especially in areas where a high proportion of the asymptomatic population have parasitaemia, for the symptoms and signs of malaria overlap with those of other common childhood diseases, such as acute lower respiratory tract infections. However, a study of symptoms and signs in a group of children who presented to Farafenni Health Centre, The Gambia with a history of recent fever identified a group of signs and symptoms which were strong predictors of malaria as opposed to other febrile illnesses. Using these predictors, an algorithm was developed which could be used by fieldworkers and which had a similar sensitivity and specificity for the diagnosis of malaria as that of an experienced paediatrician working without laboratory support. This algorithm has been validated prospectively on 518 children who presented to the Medical Research Council clinic at Basse, The Gambia with fever or a history of recent fever during a 10-month period. A fieldworker obtained a detailed history from the parent or guardian of each child and performed a clinical examination which included measurement of axillary temperature and respiratory rate. Packed cell volume was measured and a thick smear was examined for malaria parasites. A malaria score, based on the presence or absence of malaria-related signs and symptoms, was determined for 382 children who were seen at the clinic during the high transmission season. Using the cut-off score which was optimal during the previous retrospective study, a sensitivity of 70% and a specificity of 77% for a diagnosis of malaria was obtained. The optimal cut-off score for the Basse population was a score of 7; this gave a sensitivity of 88% and a specificity of 62%, figures comparable to those obtained by an experienced paediatrician without laboratory support.

S. Bonnet, R. E. Paul, C. Gouagna, I. Safeukui, J. Y. Meunier, R. Gounoue and C. Boudin. Level and dynamics of malaria transmission and morbidity in an equatorial area of South Cameroon. *Trop Med Int Health*. 2002 Mar;7(3):249-56.

We conducted parasitological and entomological malaria surveys among the population of Mengang district in southern Cameroon to analyse the relationship between malaria transmission intensity and malaria morbidity. We investigated two adjacent areas which differ 10-fold in transmission intensity [annual entomological inoculation rate (EIR) 17 vs. 170], but have very similar *Plasmodium falciparum* malariometric profiles with parasite prevalences of 58 vs. 64%, high parasitaemia prevalences (> 1000 parasites/microl) of 15 vs. 16% and the same morbidity of 0.17-0.5 attacks/person/year. *Plasmodium malariae* prevalence was 14 vs. 16%. One possible explanation is that the similarity of the duration of the short and high transmission seasons in both areas is equally, if not more, significant for parasitological and clinical profiles as the annual EIR. We discuss the relationships between variations in transmission levels, parasitaemia and clinical incidence, and draw parallels to similar situations elsewhere.

P. Bouvier, N. Breslow, O. Doumbo, C. F. Robert, M. Picquet, A. Mauris, A. Dolo, H. K. Dembele, V. Delley and A. Rougemont. Seasonality, malaria, and impact of prophylaxis in a West African village. II. Effect on birthweight. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 1997 /04/;56(4):384-389.

The impact of malaria on low birthweight was investigated in Bougoula village (Sikasso region, Mali). In two successive years, pregnant women were followed until delivery. Phase I (1992) was observational, with 135 complete observations. Phase II (1993) included 126 participants, who were offered malaria prophylaxis with proguanil (200 mg/day) and chloroquine (300 mg/week). The results show that 1) infants of first and second pregnancies had lower birth weights (-382.7 +/- 62.6 g;  $P < 0.0001$ ) compared with higher rank pregnancies; 2) strong seasonal variation in birthweight was observed in Phase I, with an annual cycle, a nadir in January, and an amplitude of 372.4 g ( $P = 0.0002$ ); 3) parasitemia measured during pregnancy was associated with lower birthweight in infants from first and second pregnancies, but not from higher parity mothers; and 4) malaria prophylaxis taken for 20 weeks or more in Phase II suppressed the seasonal variation of birthweight and the effect of low parity (+423.4 +/- 118.8 g;  $P = 0.0004$ ). We conclude that malaria in pregnancy has an important negative impact on birthweight in first and second pregnancies. Prophylaxis with proguanil and chloroquine is an effective prophylaxis when taken for 20 weeks or more.

P. Bouvier, O. Doumbo, N. Breslow, C. F. Robert, A. Mauris, M. Picquet, B. Kouriba, H. K. Dembele, V. Delley and A. Rougemont. Seasonality, malaria, and impact of prophylaxis in a West African village I. Effect of anemia in pregnancy. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 1997 /04/;56(4):378-383.

The importance of malaria as a cause of anemia in pregnancy in endemic areas remains controversial. The prevalence of anemia in pregnant women following the dry (May) and the rainy (November) seasons was compared in two successive years in Bougoula village (region of Sikasso, Mali). Phase I (1992) was observational and included 172 pregnant women and 208 controls. In Phase II (1993, 174 pregnant women and 206 controls), malaria prophylaxis with proguanil (200 mg/day) and chloroquine (300 mg/week) was offered to pregnant women. A strong seasonal variation in the prevalence of moderate to severe anemia in pregnant women (hematocrit < 30%) occurred in Phase I (dry season = 8.7%, rainy season = 41.2%). This variation was present only in women of parity lower than five, and paralleled variation in parasitemia. In Phase II, the seasonal variation of anemia was suppressed in women under malaria prophylaxis (presence of

antimalarial metabolites in urine), and the overall prevalence of moderate to severe anemia in pregnancy decreased by 55.5% (22.8-74.3%). We conclude that malaria is the major cause of anemia in pregnancy in this region. A high priority should be given to prevention of malaria in pregnancy.

P. Bouvier, A. Rougemont, N. Breslow, O. Doumbo, V. Delley, A. Dicko, M. Diakite, A. Mauris and C. F. Robert. Seasonality and malaria in a west African village: does high parasite density predict fever incidence? *Am.J.Epidemiol.* 1997/05/01;145(9):850-857.

In this cohort study, the authors studied the effect of blood malaria parasite density on fever incidence in children in an endemic area with 9 days' follow-up of 1- to 12-year-old children during two time periods: the end of the dry season (May 1993: n = 783) and the end of the rainy season (October 1993: n = 841) in Bougoula, West Africa (region of Sikasso, Mali). The cumulative incidence of fever (temperature > 38.0 degrees C) was 2.0% in the dry season and 8.2% in the rainy season ( $p < 0.0001$ ). In the rainy season, the risk of fever was increased in children of ages 1-3 years (relative risk (RR) = 2.5, 95% confidence interval (CI) 1.6-4.1); in those with an initial parasitemia > 15,000/microliter (RR = 2.7, 95% CI 1.4-5.4); in children with an enlarged spleen (RR = 2.0, 95% CI 1.2-3.3); or in those with anemia (hematocrit < 30%: RR = 1.8, 95% CI 1.1-2.9). In the dry season, anemia was the only predictor of fever incidence. In the rainy season, the best predictors of fever were, in order, age (< 4 years), enlarged spleen, and high parasite density. Even in the higher risk groups, the cumulative incidence was < 20%. The authors conclude that most children with high parasite density do not develop fever subsequently. The association between parasite density and fever varies according to age and season. Since even high levels of parasite density do not reliably predict fever incidence, parasite density should be considered as just one of a group of indicators that increase the probability of a fever of malarial origin.

D. Chandramohan, I. Carneiro, A. Kavishwar, R. Brugha, V. Desai and B. Greenwood. A clinical algorithm for the diagnosis of malaria: results of an evaluation in an area of low endemicity. *Trop.Med.Int Health.* 2001 /07/;6(7):505-510.

We conducted a study of 1945 children and 2885 adults who presented with fever to a hospital outpatients clinic in an urban area of India order to develop and evaluate a clinical algorithm for the diagnosis of malaria. Only 139 (7%) children and 349 (12%) adults had microscopically confirmed malaria. None of the symptoms or signs elicited from the respondents were good predictors of clinical malaria. Simple scores were derived through combining clinical features which were associated with slide positivity or were judged by clinicians to be important. The best-performing algorithms were a score of 4 clinical features in children (sensitivity 60.0% and specificity 61.2%) and a score of 5 in adults (sensitivity 54.6% and specificity 57.5%). The clinical features differed and algorithm performances were poorer than in previous studies in highly endemic areas. The conclusion is that malaria diagnosis in areas of low endemicity requires microscopy to be accurate.

G. M. Cho-Min-Naing. Performance appraisal of rapid on-site malaria diagnosis (ICT malaria Pf/Pv test) in relation to human resources at village level in Myanmar. *. Acta Trop.* 2002;Jan;81((1)):13-9.

Logistic, economic and technical factors limit rapid access to microscopic confirmation of symptomatic diagnosis of malaria in many rural areas in endemic countries such as Myanmar. A study was conducted to evaluate a rapid on-site immunochromatographic test (ICT Malaria Pf/Pv) for detection of *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* in two villages in the Taikkyi region of

Myanmar. The ICT Malaria tests were performed by a volunteer health worker (VHW) in Yae-Aye-San village and by a professionally trained midwife (MW) in Kankone village. A total of 1000 symptomatic patients participated in the study by providing blood samples for an ICT test and for microscopy. The ICT performance indices, relative to microscopy, were better for the trained MW compared with the less experienced VHW. For *P. falciparum* and/or *P. vivax* infections, the sensitivities were 82.7% for the VHW compared with 93.7% for the MW. For *P. falciparum* infections, the sensitivities were 82.2% for the VHW and 91.3% for the MW, while the corresponding values for *P. vivax* infections were 66.7 and 79%, respectively. Although the test kit appeared to perform better in more experienced hands, this study questions whether this difference is related to the use of the ICT Malaria Pf/Pv test kit, or related to other factors such as differences in the quality of blood slides prepared by the VHW and MW for microscopic examination. Overall, the results suggest that a rapid diagnostic assay such as the ICT Malaria Pf/Pv test kit can be used in rural settings by relatively inexperienced persons, such as VHWs, with a reasonable degree of sensitivity, thus providing on-site confirmation of symptomatic diagnosis of malaria.

R. E. Coleman, N. Maneechai, N. Rachaphaew, C. Kumpitak, R. S. Miller, V. Soyseng, K. Thimasarn and J. Sattabongkot. Comparison of field and expert laboratory microscopy for active surveillance for asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in western Thailand. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 2002 /08/;67(2):141-144.

Microscopy of Giemsa-stained thick and thin films by a skilled microscopist has remained the standard laboratory method for the diagnosis of malaria. However, diagnosis of malaria with this method is problematic since interpretation of results requires considerable expertise, particularly at low parasite levels. We compared the efficacy of "field" and "expert laboratory" microscopy for active surveillance of *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* in western Thailand. Field microscopy consisted of an approximately five-minute read (50-100 fields) of a thick film at x700 using a natural light source, whereas expert laboratory microscopy consisted of a 20-minute read (number of parasites per 500 leukocytes) at x1,000 using a high-quality, well-maintained microscope with an artificial light source. All discordant and 20% of concordant results were cross-checked blindly. A total of 3,004 blood films collected between May and November 2000 were included in the study, of which 156 (5.2%) were positive for *P. falciparum*, 177 (5.9%) for *P. vivax*, and 4 (0.1%) for both *P. falciparum* and *P. vivax* by expert microscopy. A total of 84.4% (135 of 160) of the *P. falciparum*-positive slides and 93.9% of the *P. vivax*-positive slides had a parasitemia of less than 500/microL. Field microscopy was specific (99.3%) but not sensitive (10.0%) for the diagnosis of *P. falciparum* malaria, with a positive predictive value (PPV) of 43.2% and a negative predictive value (NPV) of 95.1%. The corresponding specificity and sensitivity for the diagnosis of *P. vivax* malaria were 99.2% and 7.1%, respectively, with a PPV of 38.7% and an NPV of 93.9%. Field microscopy, as defined in this study, is not an effective method for active malaria surveillance in western Thailand, where prevalence and parasitemia rates are low.

W. E. Collins and G. M. Jeffery. A retrospective examination of secondary sporozoite- and trophozoite-induced infections with *Plasmodium falciparum*: development of parasitologic and clinical immunity following secondary infection. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999/07;61(1 Suppl):20-35.

A retrospective study was made of clinical records to determine parasitemia and episodes of fever of 59 patients reinfected with *Plasmodium falciparum* for treatment of neurosyphilis, which was considered standard medical care at the time. Records were collected at the National Institutes of Health laboratories in Columbia, South Carolina and Milledgeville, Georgia during the period 1940 to 1963. Nineteen patients were infected via the bites of *Anopheles albimanus*, *An. quadrimaculatus*, or *An. freeborni* mosquitoes; the median prepatent period was 11.5 days. It was

evident that clinical immunity, as measured by the frequency of fever, particularly high intensity fever ( $> \text{ or } = 104$  degrees F), was increased following reinfection. The parasitologic immunity, as measured by the frequency of asexual parasite counts and gametocyte counts, was also evident. In general, in secondary infections with homologous and/or heterologous strains of *P. falciparum*, fever episodes  $> \text{ or } = 101$  degrees F and  $> \text{ or } = 104$  degrees F were reduced in number, parasitemia was reduced, and gametocyte production was reduced. However, despite long courses of parasitemia during their primary infections, most patients developed fever and, in some cases, high-density parasitemia and gametocytemia following reinfection. The intensity of the secondary response did not appear to be associated with the length of the previous course of parasitemia. In addition, current infection with heterologous strain parasites did not prevent the development of fever or higher density parasite counts following imposition of the new strain of parasite.

W. E. Collins and G. M. Jeffery. A retrospective examination of sporozoite- and trophozoite-induced infections with *Plasmodium falciparum*: development of parasitologic and clinical immunity during primary infection. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999 /07/61(1 Suppl):4-19.

A retrospective analysis was made of the parasitologic and fever records of 318 patients who had been infected with the El Limon, Santee Cooper, or McLendon strains of *Plasmodium falciparum* for treatment of neurosyphilis between 1940 and 1963 to determine the development of parasitologic and clinical immunity during primary infection. The presence of fever  $> \text{ or } = 101$  degrees F and  $> \text{ or } = 104$  degrees F, asexual parasite counts  $> \text{ or } = 1,000$  and  $> \text{ or } = 10,000/\text{microl}$ , and gametocyte counts  $> \text{ or } = 100/\text{microl}$  and  $> \text{ or } = 1,000/\text{microl}$  are presented. The frequency of fever (number of patients with fever/number of patients remaining in study) for the first 100 days of patent parasitemia, the frequency of parasite counts  $> \text{ or } = 1,000$  and  $> \text{ or } = 10,000/\text{microl}$  during the first 100 days of patent parasitemia, and the frequency of gametocyte counts  $> \text{ or } = 100$  and  $> \text{ or } = 1,000/\text{microl}$  during the first 100 days of patent parasitemia are presented for 4 groups of patients: 1) sporozoite-induced and 2) trophozoite-induced infections requiring treatment during their primary attack, and 3) sporozoite-induced and 4) trophozoite-induced infections not requiring treatment during the primary attack. For each sporozoite-induced infection, the route of inoculation (bites or syringe), the species of mosquito used, the number of mosquito glands or bites, the intensity of salivary gland infection, and the length of the prepatent period are recorded. Prepatent periods for 109 sporozoite-induced infections ranged from 6 to 28 days. Patients with parasitologic or clinical findings that required suppressive, but non-curative treatment, during the primary attack had higher frequency of fever, parasitemia, and gametocytemia than patients not so treated. Fever was concentrated in the first 2 weeks of patent parasitemia although instances of fever were reported  $>100$  days after infection. High-density parasitemia was also concentrated early in the infection; instances of parasite counts  $> \text{ or } = 10,000/\text{microl}$  occurred  $> 75$  days after infection. In conclusion, immunity to infection with *P. falciparum* was shown to develop rapidly. Following primary infection, clinical and parasitologic immunity was evident within 2-3 weeks following the detection of parasites in the peripheral circulation.

W. E. Collins and G. M. Jeffery. A retrospective examination of the patterns of recrudescence in patients infected with *Plasmodium falciparum*. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999 /07;61(1 Suppl):44-48.

A retrospective examination was made to determine median intervals between recrudescences of *Plasmodium falciparum* in 343 neurosyphilitic patients who were given malariatherapy, which was routine care at that time. Data were collected at the National Institutes of Health laboratories in Columbia, South Carolina and Milledgeville, Georgia during the period 1940 to 1963. The

geometric mean days of peak parasite count for the patients were 8, 26.5, 43.5, 62, 78.5, and 95.5 days, respectively. The intervals between these peaks of 18.5, 17, 18.5, 16.5, and 17 days suggest a fixed time frame for the appearance of different dominant parasite populations during the first 100 days of patent infection. When the data from these same patients were examined for mean peak parasite counts, the patterns indicated a consistent decrease in parasite count suggestive of increasing immunity, which was sufficient to reduce but not eliminate subsequent parasite populations. The geometric mean peak parasite counts for the 343 patients during the primary attack and the first 5 recrudescences were 40,350, 6,975, 5,090, 3,820, 3,455, and 2,375/microl, respectively.

F. T. Contamin H, Rogier C, Bonnefoy S, Konate L, Trape JF, Mercereau-Puijalon O. Different genetic characteristics of *Plasmodium falciparum* isolates collected during successive clinical malaria episodes in Senegalese children. *Am J Trop Med Hyg.* . 1996 Jun;54((6)):632-43.

A narrow epidemiologic survey was conducted during a four-month period of intense malaria transmission in Dielmo, a holoendemic Senegalese village. Longitudinal clinical and parasitologic follow-up indicate that clinical malaria episodes always occurred after an abrupt increase in parasite densities. Polymerase chain reaction analysis of *Plasmodium falciparum* parasites was carried out in blood samples collected longitudinally from 10 children who had experienced several clinical episodes during this period. Our data show that the genetic diversity of the parasites circulating in this village is very large. The successive clinical episodes experienced by each child were caused by genetically distinct parasite populations that were recently inoculated and multiplied in an apparently unrestricted manner. Importantly, the genetic characteristics of the parasite populations detected during phases of asymptomatic carriage differed from those causing a clinical episode, suggesting that the various factors that control of parasite growth in these children are strain-specific.

S. P. Coosemans M, Delacollette C. A hundred per cent of fields positive in a thick film: a useful indicator of relative changes in morbidity in areas with seasonal malaria. *Ann Trop Med Parasitol.* . 1994 Dec;88((6)):581-6.

The classical method of estimating the density of *Plasmodium falciparum* in blood, by counting the number of trophozoites per leucocyte, is compared with a method in which the proportion of microscope fields in a thick film that include at least one asexual form is evaluated. Mean densities of 144 and 1920 trophozoites/microliters blood gave 9.5% and 99.5% positive fields, respectively, and < 5% of slides with 100% positive fields were of blood with < 2000 trophozoites/microliters. The proportion with high parasitaemia (PHP) in a population, defined as the proportion of individuals with 100% positive fields, is proposed as a simple and reliable indicator of relative changes in malaria morbidity due to seasonal fluctuations or control activities. However, the use of this index is limited to areas with intermediate malaria stability. Data from a longitudinal survey in Burundi, presented to illustrate the use of PHP, show that PHP undergoes important fluctuations related to transmission. In contrast to the parasite index, the amplitude of fluctuations in PHP decreases with age as a result of acquired protective immunity. Although two health centres, one in a vector control area and one in an area with no control, reported similar proportions of cases of clinical malaria among their patients, PHP was about three times lower in patients from the vector control area. The estimation of the efficacy of a malaria control programme from simple clinical information appears unreliable. Sentinel health centres.

M. Cornet, J. Y. Le Hesran, N. Fievet, M. Cot, P. Personne, R. Gounoue, M. Beyeme and P. Deloron. Prevalence of and risk factors for anemia in young children in southern Cameroon. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1998 /05/58(5):606-611.

Anemia during childhood remains a major public health challenge in sub-Saharan Africa. To determine the prevalence of and the main risk factors for anemia in young children, we conducted a longitudinal survey in Ebolowa in southern Cameroon. Children were enrolled in two cohorts and followed during a three-year period: the first cohort was composed of 122 children from 0 to 36 months of age and the second cohort was composed of 84 children from 24 to 60 months of age. The two cohorts were followed weekly for symptomatic malaria, monthly for both symptomatic and asymptomatic malaria, and every six months for hematologic data; the children were grouped into six-month age groups. The prevalence of anemia (hemoglobin [Hb] level < 11 g/dl) was the highest in the six-month-old age group (47%) and the age-related evolution clearly showed a decrease in the prevalence from three years of age. Thus, 42% of the children less than three years of age were anemic, while 21% of the children between three and five years of age were anemic. The lowest mean  $\pm$  SD Hb content (10.7  $\pm$  2.1 g/dl) was observed in the six-month-old children and a regular improvement in the Hb level occurred from six months to three years of age. A stabilization was observed at a level of approximately 12 g/dl. At any age, there was no difference in mean Hb levels between children with AS and AA Hb genotypes. Hookworm infection was diagnosed in two children in the study population. Results of a multivariate analysis showed that placental malaria infection was the strongest risk factor for anemia in the six-month-old children (odds ratio [OR] = 3.6; 95% confidence interval [CI] = 1.1-12.3) and was independent of the frequency of parasitemia, parasitemia at the time of Hb measurement, or microcytosis. In the one-year-old age group, microcytosis was a significant factor related to anemia (OR = 2.8, 95% CI = 1-7.8) pointing out the role of iron deficiency at this age. Parasitemia at the time of Hb measurement was significantly associated with anemia in all age groups (except in 54- and 60-month-old groups). Strategies to decrease the prevalence of anemia in young children in southern Cameroon should include chemoprophylaxis for pregnant women, prevention of acquired malaria infection in both pregnancy and infancy, and prevention of nutritional iron deficiency.

M. J. Cox, D. E. Kum, L. Tavul, A. Narara, A. Raiko, M. Baisor, M. P. Alpers, G. F. Medley and K. P. Day. Dynamics of malaria parasitaemia associated with febrile illness in children from a rural area of Madang, Papua New Guinea. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 1994 /03;88(2):191-197.

Active community and self-reporting surveillance techniques have been used to describe the dynamics of febrile illness and associated malaria infection in children aged 2 to 15 years from a rural area of Madang Province, Papua New Guinea (PNG). Both history of fever and fever in association with parasitaemia appeared to be reliable indicators of malaria morbidity in this endemic area. Parasite density was observed to be a major determinant of mild malarial disease at both the population level and within an individual. Age-specific prevalence of febrile illness correlated with age-specific patterns of parasite density but not of parasite prevalence. Seasonal changes in fever incidence correlated with parasite density. The transition from afebrile to febrile state within an individual was generally associated with an increase in parasite density. Surveillance and self-reported febrile cases (which differ in severity on the basis of the perceived need for treatment) could be distinguished on the basis of parasite density. Thus surveillance techniques divide clinical malaria in rural PNG into 'mild' and 'very mild' forms. The age-specific pattern of decline of prevalence of malaria-associated febrile illness and parasite density is best explained by induction of strain-specific anti-disease immunity upon infection with a given strain of *Plasmodium falciparum*. The fever threshold in self-reporting febrile cases

was seen to decrease with age and can be explained by an age-specific decline in anti-toxic immunity.

M. H. Craig, R. W. Snow and D. le Sueur. A climate-based distribution model of malaria transmission in sub-Saharan Africa. *Parasitol.Today*. 1999 /03/15(3):105-111.

Malaria remains the single largest threat to child survival in sub-Saharan Africa and warrants long-term investment for control. Previous malaria distribution maps have been vague and arbitrary. Marlies Craig, Bob Snow and David le Sueur here describe a simple numerical approach to defining distribution of malaria transmission, based upon biological constraints of climate on parasite and vector development. The model compared well with contemporary field data and historical 'expert opinion' maps, excepting small-scale ecological anomalies. The model provides a numerical basis for further refinement and prediction of the impact of climate change on transmission. Together with population, morbidity and mortality data, the model provides a fundamental tool for strategic control of malaria.

L. P. D'Acremont V, Mueller I, Pécoud A, Genton B. Clinical and laboratory predictors of imported malaria in an outpatient setting: an aid to medical decision making in returning travelers with fever. *Am J Trop Med Hyg*. 2002;May;66( 5):481-6.

No evidence-based information exists to guide clinicians for giving presumptive treatment to returning travelers when malaria is strongly suspected on clinical grounds but laboratory confirmation is not immediately available or is negative. A prospective study was conducted in travelers or migrants who sought care for fever to identify clinical and laboratory predictors of *Plasmodium* parasitemia. A total of 336 questionnaires were collected (97 malaria case patients and 239 controls). Multivariate regression analysis showed inadequate prophylaxis, sweating, no abdominal pain, temperature  $\geq 38$  degrees C, poor general health, enlarged spleen, leucocytes  $\leq 10 \times 10^3/L$ , platelets  $< 150 \times 10^3/L$ , hemoglobin  $< 12$  g/dL, and eosinophils  $\leq 5\%$  to be associated with parasitemia. Enlarged spleen had the highest positive likelihood ratio for a diagnosis of malaria (13.6), followed by thrombopenia (11.0). Posttest probabilities for malaria were 85% with enlarged spleen and 82% with thrombopenia. A rapid assessment can thus help to decide whether a presumptive treatment should be given or not, especially when the results of the parasitological examination are not immediately available or are uncertain.

V. Delley, P. Bouvier, N. Breslow, O. Doumbo, I. Sagara, M. Diakite, A. Mauris, A. Dolo and A. Rougemont. What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali. *Trop.Med.Int Health*. 2000 /06/5(6):404-412.

Temporal variations of blood parasite density were evaluated in a longitudinal study of young, asymptomatic men in a village with endemic malaria in Mali (West Africa). Our main intention was to challenge the value of a single measure of parasite density for the diagnosis of malaria, and to define the level of endemicity in any given area. Parasitaemia and body temperature were recorded three times a day in the wet season (in 39 subjects on 12 days) and in the dry season (in 41 subjects on 13 days). Two thousand nine hundred and fifty seven blood smears (98.5% of the expected number) were examined for malaria parasites. We often found 100-fold or greater variations in parasite density within a 6-hour period during individual follow-up. All infected subjects had frequent negative smears. Although fever was most likely to occur in subjects with a maximum parasite density exceeding 10000 parasites/mm<sup>3</sup> ( $P = 0.009$ ), there was no clear relationship between the timing of these two events. Examples of individual profiles for parasite density and fever are presented. These variations (probably due to a 'sequestration-release' mechanism, which

remains to be elucidated) lead us to expect a substantial impact on measurements of endemicity when only a single sample is taken. In this study, the percentage of infected individuals varied between 28.9% and 57.9% during the dry season and between 27.5% and 70.7% during the wet season. The highest rates were observed at midday, and there were significant differences between days. Thus, high parasite density sometimes associated with fever can no longer be considered as the gold standard in the diagnosis of malaria. Other approaches, such as decision-making processes involving clinical, biological and ecological variables must be developed, especially in highly endemic areas where Plasmodium infection is the rule rather than the exception and the possible causes of fever are numerous.

G. A. Deming MS, Murphy K, Jones TS, Karsa T. Home treatment of febrile children with antimalarial drugs in Togo. *Bull World Health Organ.* . 1989;67(6).

In Togo, the principal strategy for preventing death from malaria in children is prompt treatment of fever with antimalarial drugs. A household survey was conducted in a rural area of south-central Togo in which information was collected from mothers on the treatment received by 507 children under 5 years of age who, according to their mothers, had recently had fever. Altogether, 20% of the children (95% confidence interval (CI): 15-25%) were seen at a health centre during their illness, while 83% (95% CI: 76-90%) were treated at home with an antimalarial drug. Of the children in the latter group, 97% received the drug on the first day of fever. In contrast, only 17% of children who attended a health centre were seen on the first day of their fever. Chloroquine, usually obtained from a street or market vendor, was used for 94% of the treatments given at home. Based on children's weights and treatment histories provided by their mothers, the median total dosage of chloroquine given at home was 12.8 mg per kg body weight--more than that recommended and known to be fully effective in Togo at the time of the survey (10 mg per kg) and less than the total dosage recommended at present (25 mg per kg). The dosage administered was considered to be inadequate for 70% of home treatments, because less than 10 mg per kg was given during the first 24 hours of treatment. In the study area, parents were the main providers of antimalarial drug treatment to children with fever and need guidance on the correct dosage of chloroquine.

G. Dolo, O. J. Briet, A. Dao, S. F. Traore, M. Bouare, N. Sogoba, O. Niare, M. Bagayogo, D. Sangare, T. Teuscher and Y. T. Toure. Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Trop.* 2004 Jan;89(2):147-59.

Seven cross-sectional entomological surveys were carried out from September 1995 to February 1998 in three irrigated rice growing villages and three villages without irrigated agriculture in the area surrounding Niono, located 350km north-east of Bamako, Mali. The transmission pattern differed markedly between the two zones. In the irrigated zone, the transmission of malaria was fairly constant over the seasons at a low level. In the non-irrigated zone, transmission was mostly below detection level during the dry season, whereas it was high toward the end of the rainy season. In the irrigated zone, high densities of mosquitoes were correlated with low anthropophily, low sporozoite indices and probably low survival rates. In the non-irrigated zone, mosquito densities were lower and these relationships were less pronounced. Differential use of mosquito nets in the two zones may have been an important factor in the observed differences in transmission. The presence of cattle may also have played an important role. Two mosquito-catching methods (human landing catch and spray catch) were compared.

A. M. Dondorp, B. J. Angus, K. Chotivanich, K. Silamut, R. Ruangveerayuth, M. R. Hardeman, P. A. Kager, J. Vreeken and N. J. White. Red blood cell deformability as a

predictor of anemia in severe falciparum malaria. Am J Trop Med Hyg. 1999 May;60(5):733-7.

Decreased erythropoiesis and increased clearance of both parasitized and noninfected erythrocytes both contribute to the pathogenesis of anemia in falciparum malaria. Erythrocytes with reduced deformability are more likely to be cleared from the circulation by the spleen, a process that is augmented in acute malaria. Using a laser diffraction technique, we measured red blood cell (RBC) deformability over a range of shear stresses and related this to the severity of anemia in 36 adults with severe falciparum malaria. The RBC deformability at a high shear stress of 30 Pa, similar to that encountered in the splenic sinusoids, showed a significant positive correlation with the nadir in hemoglobin concentration during hospitalization ( $r = 0.49$ ,  $P < 0.002$ ). Exclusion of five patients with microcytic anemia strengthened this relationship ( $r = 0.64$ ,  $P < 0.001$ ). Reduction in RBC deformability resulted mainly from changes in unparasitized erythrocytes. Reduced deformability of uninfected erythrocytes at high shear stresses and subsequent splenic removal of these cells may be an important contributor to the anemia of severe malaria.

M. A. C. Dowling. A comparative study of thick and thin blood films in the diagnosis of scanty malaria parasitaemia. Bull World Health Organ. 1966;34(2) 249-67.

W. C. Dubey ML, Ganguly NK, Mahajan RC. Comparative evaluation of methods of malaria parasite density determination in blood samples from patients & experimental animals. Indian J Med Res. 1999 Jan;(109):20-7.

Three methods for the quantitation of parasitaemia in malaria were compared with the standard method for ascertaining the accuracy in patients, Plasmodium berghei infected mice and P. knowlesi infected Rhesus monkeys. Technique I, where parasitaemia was calculated from the number of PRBCs in 10,000 RBCs in thin blood film and the total RBC count of the host, was used as the standard. Technique II, where parasitaemia was calculated based on the number of PRBCs per WBC and average total WBC count (8000/microliter), was least accurate. Technique IV, where parasitaemia was calculated from the number of PRBCs per oil immersion field (OIF) of microscope and the estimated amount of blood in one OIF of a thick smear, was most accurate when parasitaemia was low as in malaria patients and experimental animals with < 1 per cent parasitaemia. In mice with moderate parasitaemia (5-10%) and in falciparum malaria cases (with 3-7% parasitaemia) also technique IV was most accurate. In both animal models showing high (15-25%) and in monkeys with moderate parasitaemia, technique III based on the number of PRBCs per WBC and actual total WBC count, was the most accurate. Thus, technique IV being simpler and cost effective, with standardization of the amount of blood used in making a thick smear, may be used routinely for quantitation of parasitaemia.

H. Ekvall, P. Arese, F. Turrini, K. Ayi, F. Mannu, Z. Premji and A. Bjorkman. Acute haemolysis in childhood falciparum malaria. Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 2001/11/95(6):611-617.

Acute haemolysis associated with clinical episodes of high-level Plasmodium falciparum parasitaemia was studied in 20 children from an holoendemic area (coastal Tanzania). The change in blood haemoglobin (Hb) concentration ranged from -46 to g/L during the 72-h observation period

and was linearly related to maximum parasitaemia. Balance studies between loss of blood Hb, increase in plasma Hb and appearance of Hb in the urine indicated that extravascular clearance of red cells was the predominant mode of erythrocyte clearance. Most subjects, however, showed minor signs of intravascular haemolysis. The plasma Hb was  $\ll$  1% of blood Hb and haemoglobinuria was detected in 14/20 children but the excretion of Hb in urine was  $<$  0.5% of total Hb loss. Haemoglobinuria was, however, a marker of severe haemolysis, since the maximum blood Hb loss in children without haemoglobinuria was 10 g/L. Erythrocyte-bound opsonins known to induce erythrophagocytosis, i.e., complement C3c fragments and autologous IgG, were increased in all patients. In the patients with major haemolysis, the changes correlated to the haemolysis over time. Hence, a similar mechanism for predominantly extravascular erythrocyte clearance may be operative in acute malarial anaemia, normal erythrocyte senescence and other forms of acute haemolysis.

H. Ekvall, Z. Premji and A. Bjorkman. Chloroquine treatment for uncomplicated childhood malaria in an area with drug resistance: early treatment failure aggravates anaemia. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 1998 /09/92(5):556-560.

Childhood anaemia is a major public health problem in malaria holoendemic areas. We assessed the effects of antimalarial treatment in an area with drug-resistant falciparum malaria on haemoglobin levels in small children by applying the 1996 World Health Organization in vivo method for the evaluation of standard chloroquine treatment at the community level. In Fukayosi village, coastal Tanzania, 117 children aged 5-36 months with clinical malaria episodes were treated with chloroquine syrup (25 mg/kg). Early treatment failure (ETF) occurred in 20% and late treatment failure (LTF) in 22% of cases. Age  $>$  1 year and malnutrition were protective factors against ETF. The evidence that chloroquine treatment could not prevent an exacerbation of anaemia was (i) the fact that the fall in haemoglobin level after 72 h was significantly greater in ETF than in children with LTF and an adequate clinical response, and (ii) the absence of any haematological improvement at follow-up in children receiving chloroquine alone, even in true treatment successes. In contrast, pyrimethamine/sulfadoxine administered to treatment failures improved the haemoglobin level significantly  $>$  21 d after treatment started (mean difference 14 g/L, 95% confidence interval 2.1-27). We conclude that, when chloroquine treatment of childhood malaria is associated with a 20% ETF rate, the haemoglobin response is unsatisfactory and there is a need to change the recommended first-line treatment.

F. Esamai, E. Nabakwe, S. Mining, P. Forsberg and D. H. Lewis. Clinical presentation and diagnosis of cerebral malaria in children in the highlands of western Kenya. *East Afr Med J.* 1999 Feb;76(2):89-92.

**BACKGROUND:** The clinical presentation of cerebral malaria in children in the highlands has not been documented. **OBJECTIVE:** To describe the presentation of cerebral malaria in the age group one to twelve years. **DESIGN:** Prospective study conducted from May to September 1997, the rainy season during which malaria occurs in epidemics in the highlands of Kenya. **SETTING:** Paediatric wards of the Moi Teaching and Referral Hospital, Eldoret which is the Teaching Hospital for Moi University and the referral centre for surrounding districts of Western Kenya, with an altitude of over 2000 metres above sea level. **PATIENTS:** Twenty three consecutive children aged one to twelve years with cerebral malaria as defined by the WHO were studied. All children were treated with the standard quinine regimen for cerebral malaria. **RESULTS:** Majority of the children were six to ten years of age with 95.7% having a normal weight for age. 91.3%, 89.5% and 72.2% had fever, headache and convulsions respectively. 68.1% had a short duration of illness (less than three days) with only 9.5% presenting with hypoglycaemia. Severe anaemia was not observed but 72% had mild to moderate anaemia. Hyperparasitaemia (parasite counts greater than 100,000 per microlitre) was found in majority of the cases. **CONCLUSION:** Cerebral malaria presentation in the

highlands is similar to that among non-immune populations and is an acute fulminant illness presenting with coma, hyperparasitaemia, fever and convulsions in children with normal nutritional status.

G. V. Falzon A, Caruana B, Magro A, Attard-Montalto S. How reliable is axillary temperature measurement? . 92. 2003;(3):309-13.

AIM: To assess whether axillary temperature measurements reliably reflect oral/rectal temperature measurements. METHODS: This observational study compared paired axillary-rectal and axillary-oral temperatures in a general paediatric ward with the participation of 225 children aged < or = 4 y and 112 children aged between 4 and 14 y. RESULTS: Changes in oral/rectal and axillary temperatures correlated significantly ( $p < 0.0001$ ). However, axillary temperature measurements were significantly lower than both oral (mean  $-0.56$  degrees C, SD  $0.76$  degrees C) and rectal measurements ( $0.38$  degrees C; SD  $0.76$  degrees C). Ninety-five percent of axillary measurements fell within a  $2.5$ - $3$  degrees C range around respective paired oral/rectal measurements. The mean difference increased with increasing temperature, and was  $0.4$  degrees C at low body temperatures, and over  $1$  degree C with a fever of  $39$  degrees C. Neither seasonal fluctuations nor the amount of clothing worn influenced this difference. CONCLUSION: Axillary temperatures in young children do not reliably reflect oral/rectal temperatures and should therefore be interpreted with caution.

G. A. Farcas, K. J. Zhong, F. E. Lovegrove, C. M. Graham and K. C. Kain. Evaluation of the Binax NOW ICT test versus polymerase chain reaction and microscopy for the detection of malaria in returned travelers. Am J Trop Med Hyg. 2003 Dec;69(6):589-92.

Microscopic detection of Plasmodium species has been the reference standard for the diagnosis of malaria for more than a century. However, maintaining a sufficient level of expertise in microscopic diagnosis can be challenging, particularly in non-endemic countries. The objective of this study was to compare a new rapid malaria diagnostic device (NOW ICT Malaria Test; Binax, Inc., Portland, ME) to polymerase chain reaction (PCR) and expert microscopy for the diagnosis of malaria in 256 febrile returned travelers. Compared with PCR, the NOW ICT test showed a sensitivity of 94% for the detection of *P. falciparum* malaria (96% for pure *P. falciparum* infection) and 84% for non-*P. falciparum* infections (87% for pure *P. vivax* infections and 62% for pure *P. ovale* and *P. malariae* infections), with an overall specificity of 99%. The Binax NOW ICT may represent a useful adjunct for the diagnosis of *P. falciparum* and *P. vivax* malaria in febrile returned travelers.

A. Farnert, G. Snounou, I. Rooth and A. Bjorkman. Daily dynamics of Plasmodium falciparum subpopulations in asymptomatic children in a holoendemic area. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1997 /05;56(5):538-547.

*Plasmodium falciparum* is the major cause of malaria morbidity and mortality in the world. Biologic and antigenic diversity is a characteristic of this parasite and infections can consist of several genetically diverse parasites. The daily dynamics of these parasite subpopulations were investigated in asymptomatic children in rural Tanzania. Fingerprick blood samples were collected on 14 consecutive days from 20 children. Parasite densities were detected by light microscopy and genotyping of *P. falciparum* was done using a nested polymerase chain reaction (PCR) assay

targeting polymorphic regions on the merozoite surface protein-1 (MSP-1), MSP-2, and glutamine-rich protein (GLURP) genes. In the eight children harboring *P. falciparum* throughout the study period, infections were found to be highly complex with daily changes in both parasite density and genotypic pattern. A nonrandom, 48-hr periodicity in these fluctuations suggests that *P. falciparum* infections consist of inherently synchronous subpopulations of parasites. These findings have important biologic and epidemiologic implications since one blood sample may only partly reflect the whole parasite population in an infected individual.

L. A. Fasan PO. Malaria parasitaemia and body temperature in a semi-immune population in southern Nigeria.

. Bull. World Health Organ 1969;41((2)):309-11

F. Font, G. M. Alonso, R. Nathan, J. Kimario, F. Lwilla, C. Ascaso, M. Tanner, C. Menendez and P. L. Alonso. Diagnostic accuracy and case management of clinical malaria in the primary health services of a rural area in south-eastern Tanzania.

Trop.Med.Int.Health. 2001 2001/06//;6(6):423-428.

Malaria control continues to rely on the diagnosis and prompt treatment of both suspected and confirmed cases through the health care structures. In south-eastern Tanzania malaria is one of the leading causes of morbidity and mortality. The absence of microscopic examination in most of the health facilities implies that health workers must rely on clinical suspicion to identify the need of treatment for malaria. Of 1558 randomly selected paediatric consultations at peripheral health facilities throughout Kilombero District, 41.1% were diagnosed by the attending health worker as clinical malaria cases and 42.5% prescribed an antimalarial. According to our malaria case definition of fever or history of fever with asexual falciparum parasitaemia of any density, 25.5% of all children attending the health services had malaria. This yielded a sensitivity of 70.4% (IC95% = 65.9-74.8%) and a specificity of 68.9% (IC95% = 66.2-71.5%). Accordingly, 30.4% of confirmed cases left with no antimalarial treatment. Among malaria-diagnosed patients, 10% were underdosed and 10.5% were overdosed. In this area, as in many African rural areas, the low diagnostic accuracy may imply that the burden of malaria cases may be overestimated. Greater emphasis on the functioning and quality of basic health services in rural endemic areas is required if improved case management of malaria is to help roll back this scourge.

S. Franks, K. A. Koram, G. E. Wagner, K. Tetteh, D. McGuinness, J. G. Wheeler, F. Nkrumah, L. Ranford-Cartwright and E. M. Riley. Frequent and persistent, asymptomatic *Plasmodium falciparum* infections in African infants, characterized by multilocus genotyping. J.Infect.Dis. 2001/03/01//;183(5):796-804.

To determine the duration and complexity of naturally acquired *Plasmodium falciparum* infections in small children, a longitudinal cohort study of 143 newborns was conducted in coastal Ghana. On average, children experienced 2 episodes of infection in their first 2 years of life, the median duration of an asymptomatic infection was <4 weeks, and estimates of the mean number of parasite genotypes per infection were 1.15-2.28. Nevertheless, 40% of the children experienced infections lasting  $\leq$ 12 weeks, and both the duration and complexity of infections increased with age. The longest period of continual infection was 64 weeks, and the maximum persistence of a single parasite genotype was 40 weeks. Thus, malaria infections in infants <5 months old tend to be asymptomatic and rapidly cleared; persistent asymptomatic parasitemia is more common in children >5 months old. The ability of very young children to clear or control malaria infections indicates the presence of effective innate or immune antiparasite mechanisms.

B. Genton, T. Smith, K. Baea, A. Narara, F. al Yaman, H. P. Beck, J. Hii and M. Alpers. Malaria: how useful are clinical criteria for improving the diagnosis in a highly endemic area? *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 1994 /09;88(5):537-541.

To assess the validity of clinical criteria, we investigated 2096 outpatients diagnosed as malaria cases by nurses at a rural health subcentre in a highly endemic area of Papua New Guinea. 73% of the children < 10 years old had a positive blood slide for any species of Plasmodium and 32% had  $\geq 10,000$  *P. falciparum* parasites per microL. For adults the frequencies were 51% and 9%, respectively. Stepwise logistic regression identified spleen size, no cough, temperature, no chest indrawing, and normal stools as significant predictors for a positive blood slide in children; no cough and normal stools predicted a positive blood slide in adults. Fever, no cough, vomiting, and enlarged spleen were significant predictors for a *P. falciparum* parasitaemia  $\geq 10,000$ /microL in children; in adults the only predictor was vomiting. In children the association of no cough and enlarged spleen had the best predictive value for a positive blood slide, and a temperature  $\geq 38$  degrees C had the best predictive value for a *P. falciparum* parasitaemia  $\geq 10,000$  microL. In adults, no major symptom had a good predictive value for a positive blood slide but vomiting had the best predictive value for a *P. falciparum* parasitaemia  $\geq 10,000$ /microL. When microscopy is not available, these findings can help in areas of high endemicity to determine which patients with a history of fever are most likely to have malaria and, more importantly, for which patients another diagnosis should be strongly considered.

M. Gomes, F. E. Espino, J. Abaquin, C. Realon and N. P. Salazar. Symptomatic identification of malaria in the home and in the primary health care clinic. *Bull.World Health Organ.* 1994;72(3):383-390.

In endemic areas in the absence of microscopy, the WHO case definition of malaria is the presence or a history of fever without other obvious cause. Yet there is little empirical evidence on the accuracy, predictability and reliability of clinical signs and symptoms for diagnosing malaria within different endemic settings. Studying patients in endemic communities in the Philippines, we found that fever alone did not discriminate well for malaria. In contrast, a sequential occurrence of fever, chills and/or sweating, or a combination of all three symptoms was a good general predictor of the disease. However, the place of diagnosis and observation (home or clinic), age, and season affected the positive predictive values obtained. Specificities and positive predictive values were greatest (over 80%) for those at most risk--children under 9 years of age in highly endemic communities--and were most reliable when the diagnosis was made at home. Predictive values were also greatest during the season when childhood acute lower respiratory infections in the study area increase. The good predictability of clinical signs and symptoms for high-risk groups suggests that simple protocols can be developed for the management of malaria in endemic areas of the Philippines.

M. B. Gravenor, A. L. Lloyd, P. G. Kremsner, M. A. Missinou, M. English, K. Marsh and D. Kwiatkowski. A model for estimating total parasite load in falciparum malaria patients. *J.Theor.Biol.* 2002/07/21;217(2):137-148.

We describe an age-structured mathematical model of the malaria parasite life cycle that uses clinical observations of peripheral parasitaemia to estimate population dynamics of sequestered parasites, which are hidden from the clinical investigator. First, the model was tested on parasite populations cultured in vitro, and was found to account for approximately 72% of the variation in that sub-population of parasites that would have been sequestered in vivo. Next, the model was

applied to patients undergoing antimalarial therapy. Using individual data sets we found that although the model fitted the peripheral parasite curves very well, unique solutions for the fit could not be obtained; therefore, robust estimates of sequestered parasite dynamics remained unavailable. We conclude that even given detailed data on individual parasitaemia, estimates of sequestered numbers may be difficult to obtain. However, if data on individuals undergoing similar therapy are collected at equal time intervals, some of these problems may be overcome by estimating specific parameters over groups of patients. In this manner we estimated sequestered parasite density in a group of patients sampled at identical time points following antimalarial treatment. Using this approach we found significant relationships between changes in parasite density, age structure and temperature that were not apparent from the analysis of peripheral parasitaemia only.

B. M. Greenwood, A. K. Bradley, A. M. Greenwood, P. Byass, K. Jammeh, K. Marsh, S. Tulloch, F. S. Oldfield and R. Hayes. Mortality and morbidity from malaria among children in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 1987;81(3):478-486.

Guiguemde TR, Toe AC, Sadeler BC, Gbary AR, Ouedraogo JB, Louboutin-Croc JP. Variation of the parasite density of *Plasmodium falciparum* in asymptomatic carriers: consequences for malaria chemoresistance studies  
*Med Trop (Mars).* 1992 Jul-Sep;52(3):313-5.

During the studies on malaria chemoresistance, we noted great variations in parasite density of *Plasmodium falciparum* between screening in the morning and final selection in the afternoon, in asymptomatic people. To better understand this phenomenon, we conducted a study in October 1987 on primary school children in a village near the city of Bobo-Dioulasso, at the peak malaria prevalence. We performed 3 blood-smears at 8 a.m., 2 p.m. and 8 p.m., on Day 0 and Day 4, to an initial number of 86 children, aged from 6 to 9 years. By the end of the study 44 children remained who fulfilled the inclusion criteria. Among them 35 showed a parasitaemia on Day 0 and 9 remained negative. On Day 4, 28 were positive and 16 remained negative. Of the 35 children positive at entry to the study 16 remained continuously positive, the others were negative on at least one occasion. Of the 28 children positive on Day 4, 14 remained continuously positive. For the 16 people with a parasitaemia continuously positive on Day 0, 7 (43.7 p. cent) became spontaneously negative on Day 4. But considering the small size of our sample, the analysis of the nycthemeral variation and of the variation between the two days did not show a significant difference. Further studies involving a greater number of blood-smears during a longer period and concerning more people, should be conducted. The possibility of spontaneous negativation of the parasitaemia without drug absorption shows that there are some cases of false malaria chemosensitivity that are declared when the in vivo tests are not coupled with in vitro tests.

S. Gwer, C. R. Newton and J. A. Berkley. Over-diagnosis and co-morbidity of severe malaria in African children: a guide for clinicians. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Dec;77(6 Suppl):6-13.

Severe malaria is clinically similar to other severe febrile illnesses. However, in endemic areas, parasitological confirmation of parasitemia is often unavailable or unreliable. False-positive malaria microscopy is common. The most important consequence of treating only for malaria when no parasitemia exists is failure to address other life-threatening conditions. Invasive bacterial

infections are detected in up to one third of children with clinical features of severe malaria but a slide with results negative for malaria. Even among genuinely parasitized children, severe illness is not always due to malaria in endemic areas. We believe that routine use of parenteral antibiotics among children with a slide that indicates malaria and life-threatening disease is warranted because invasive bacterial infections are likely to be under-ascertained and are associated with increased mortality. Published data on co-morbidity with HIV infection and malnutrition are reviewed. A structured approach to assessment and care is essential, and is largely independent of underlying etiology.

A. A. Hamad, A. H. Nugud, D. E. Arnot, H. A. Giha, A. M. Abdel-Muhsin, G. M. Satti, T. G. Theander, A. M. Creasey, H. A. Babiker and D. E. Elnaiem. A marked seasonality of malaria transmission in two rural sites in eastern Sudan. *Acta Trop.* 2002/07;83(1):71-82.

The ecology of *Anopheles arabiensis* and its relationship to malaria transmission was investigated in two villages in eastern Sudan. Seasonal malaria case incidence was compared with the number of vectors detected and with climatic variables. Following the end of the short rainy season in October the number of *A. arabiensis* detected dropped gradually until February when neither outdoor human bait trapping nor indoor spray catches revealed any mosquitoes. Vectors re-appeared in June as humidity rose with the onset of rain. Despite the apparent absence of the vector at the height of the long, hot dry season between February and May, sporadic asymptomatic malaria infections were detected in the two villages. The low endemicity of malaria in the area was reflected by the relatively low total September-December parasite and sporozoite rates (15 and 1.4%, respectively) measured in the villages. The entomological inoculation rate (EIR) was estimated to be around two to three infective bites per person per year, although heterogeneity in the transmission indices of malaria between the two villages was observed. The implications of these patterns of anopheline population dynamics for the epidemiology and control of malaria in eastern Sudan are considered.

G. F. Hemme F. Internal quality control of the malaria microscopy diagnosis for 10 laboratories on the Thai-Myanmar border. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* . 1998; Sep: 29(3):529-36.

On the Thai-Myanmar border, where multidrug resistance to anti-malaria medications is a major problem, a quality control program for diagnostic laboratories has been set up. This study examines the "passive" screening performed in 10 laboratories. Monthly evaluation of the quality of thick and thin smear practice, Giemsa staining and microscopy took place during the year 1994. Considering the general context and the methodology applied, the evaluation of performance and strategy of the malaria diagnostic test showed satisfactory results for all 10 laboratories. Performance of technics = 64% (62-66) to 96% (95-97); Sensitivity = 92.6 (91.5-95.5) to 96.6% (95.8-99.0); Specificity = 93.5% (91.4-95.5) to 98.3% (97.6-99.0); Predictive Positive Value = 92.0% (90.9-93.1) to 98.3% (97.6-99.0); Predictive Negative Value = 94.3% (93.0-95.6) to 98.5% (98.0-99.0). The study underlines the importance of a reliable quality control method for microscopy diagnosis of malaria in hyperendemic areas, with *Plasmodium falciparum* as the main species. A high level of input from the international laboratory technician, performing training, follow-up and evaluation was required. The need for adequate training of national technicians and supervisors, especially regarding long-term sustainability, is stressed. The type of program presented can be used as a model for similar projects in developing countries.

D. T. Huong NM, Hewitt S, Huong NV, Uyen TT, Nhan DH, Cong le D. Comparison of three antigen detection methods for diagnosis and therapeutic monitoring of malaria: a field study from southern Vietnam. *Trop Med Int Health*. . 2002;Apr;7:(4):304-8.

**OBJECTIVES:** To compare the sensitivity, specificity and post-treatment persistence of three commonly used rapid antigen detection methods. **METHOD:** We studied 252 Vietnamese patients aged from 4 to 60 years, 157 with falciparum and 95 with vivax malaria and 160 healthy volunteers. An initial blood sample was taken for microscopy, and OptiMAL, immunochromatographic test (ICT) malaria P.f./P.v. and Paracheck-Pf tests. Patients with falciparum malaria were treated with an artesunate-based combination regimen and those with vivax malaria received chloroquine. Eighty-seven patients with falciparum malaria who were initially positive for one of the antigen tests and who remained blood smear-negative underwent follow-up testing over 28 days. **RESULTS:** Paracheck-Pf was the most sensitive test for *Plasmodium falciparum* (95.8% vs. 82.6% for ICT malaria P.f./P.v. and 49.7% for OptiMAL). Specificities were all 100%. For vivax malaria, OptiMAL performed better than ICT malaria P.f./P.v. (sensitivities 73.7% and 20.0%, respectively), with 100% specificity in both cases. All tests had low sensitivities (< or = 75.0%) at parasitaemias < 1000/microl regardless of malaria species. During follow-up, Paracheck-Pf remained positive in the greatest proportion of patients, especially at higher parasitaemias (> 10,000/microl). Residual OptiMAL positivity occurred only in a relatively small proportion of patients (< 10%) with parasitaemias > 10,000/microl during the first 2 weeks after treatment. **CONCLUSIONS:** Although microscopy remains the gold standard for malaria diagnosis, Paracheck-Pf may prove a useful adjunctive test in uncomplicated falciparum malaria in southern Vietnam. OptiMAL had the lowest sensitivity for *P. falciparum* but it might have a use in the diagnosis of vivax malaria and perhaps to monitor efficacy of treatment for falciparum malaria where microscopy is unavailable.

A. Jonkman, R. A. Chibwe, C. O. Khoromana, U. L. Liabunya, M. E. Chaponda, G. E. Kandiero, M. E. Molyneux and T. E. Taylor. Cost-saving through microscopy-based versus presumptive diagnosis of malaria in adult outpatients in Malawi. *Bull. World Health Organ*. 1995;73(2):223-227.

The cost implications of changing from a policy of presumptive diagnosis to one of microscopy-based diagnosis in the management of uncomplicated malaria in an urban hospital adult outpatient clinic in Malawi were studied. Costs were measured in three separate weeks during the rainy season. In weeks I and II all uncomplicated malaria cases were treated on the basis of a presumptive diagnosis. In week II, blood films were taken but the results were not made available and did not affect drug dispensing. In week III, antimalarial drugs were restricted to parasitaemic patients. In week I, a total of 7216 prescriptions were written and dispensed, of which 2883 (39.9%) were for antimalarial drugs. The proportion of antimalarial prescriptions fell to 1171/5556 (21.1%) in week II and 357/5377 (6.6%) in week III. We estimate annual savings from microscopy-directed treatment in this setting to be 52,000 Malawi kwacha (US\$ 14,000). This represents 3% of the annual drugs budget for the hospital, and is large enough to justify a change in policy.

E. Kahigwa, D. Schellenberg, S. Sanz, J. J. Aponte, J. Wigayi, H. Mshinda, P. Alonso and C. Menendez. Risk factors for presentation to hospital with severe anaemia in Tanzanian children: a case-control study. *Trop. Med. Int Health*. 2002/10;7(10):823-830.

In malaria endemic areas anaemia is a usually silent condition that nevertheless places a considerable burden on health services. Cases of severe anaemia often require hospitalization and blood transfusions. The objective of this study was to assess risk factors for admission with anaemia to facilitate the design of anaemia control programmes. We conducted a prospective

case-control study of children aged 2-59 months admitted to a district hospital in southern Tanzania. There were 216 cases of severe anaemia [packed cell volume (PCV) < 25%] and 234 age-matched controls (PCV > or = 25%). Most cases [55.6% (n = 120)] were < 1 year of age. Anaemia was significantly associated with the educational level of parents, type of accommodation, health-seeking behaviour, the child's nutritional status and recent and current medical history. Of these, the single most important factor was Plasmodium falciparum parasitaemia [OR 4.3, 95% confidence interval (CI) 2.9-6.5, P < 0.001]. Multivariate analysis showed that increased recent health expenditure [OR 2.2 (95% CI 1.3-3.9), P = 0.005], malnutrition [OR 2.4 (95%CI 1.3-4.3), P < 0.001], living > 10 km from the hospital [OR 3.0 (95% CI 1.9-4.9), P < 0.001], a history of previous blood transfusion [OR 3.8 (95% CI 1.7-9.1), P < 0.001] and P. falciparum parasitaemia [OR 9.5 (95% CI 4.3-21.3), P < 0.001] were independently related to risk of being admitted with anaemia. These findings are considered in terms of the pathophysiological pathway leading to anaemia. The concentration of anaemia in infants and problems of access to health services and adequate case management underline the need for targeted preventive strategies for anaemia control.

H. M. Kain KC, Tennyson S, Keystone JS. Clin Infect Dis. 1998 .Jul;27:(1):142-9.

Imported malaria is an increasing problem in many countries. The objective of this study was to prospectively evaluate the diagnosis and treatment of imported malaria cases identified by active surveillance. Microscopic diagnosis at the community level was also compared to reference microscopic and blinded molecular diagnostic methods. Most travelers who acquire malaria had sought pretravel advice from a physician; however, only 11% used recommended chemoprophylaxis and only 17% used insect protection measures. The diagnosis of malaria was initially missed in 59% of cases. Community-based microscopic diagnosis provided incorrect species identification in 64% of cases. After presentation, the average delay before treatment was 7.6 days for falciparum malaria and 5.1 days for vivax malaria. Overall, 7.5% of Plasmodium falciparum-infected patients developed severe malaria, and in 11% of all cases therapy failed. Patients who present to a center without expertise in tropical medicine receive suboptimal treatment. Improvements in recognition, diagnosis, and treatment of malaria are essential to prevent morbidity and death among travelers.

H. D. Kalter, G. Burnham, P. R. Kolstad, M. Hossain, J. A. Schillinger, N. Z. Khan, S. Saha, W. de, V, N. Kenya-Mugisha, B. Schwartz and R. E. Black. Evaluation of clinical signs to diagnose anaemia in Uganda and Bangladesh, in areas with and without malaria. Bull.World Health Organ. 1997;75 Suppl 1:103-111.

The object of this study was to assess the ability of pallor and other clinical signs, including those in the Integrated Management of Childhood Illness (IMCI) guidelines developed by WHO and UNICEF, to identify severe anaemia and some anaemia in developing country settings with and without malaria. A total of 1226 and 668 children aged 2 months to 5 years were prospectively sampled from patients presenting at, respectively, a district hospital in rural Uganda and a children's hospital in Dhaka, Bangladesh. The study physicians obtained a standardized history and carried out a physical examination that included pallor, signs of respiratory distress, and the remaining IMCI referral signs. The haematocrit or haemoglobin level was determined in all children with conjunctival or palmar pallor, and in a sample of the rest. Children with a blood level measurement and assessment of pallor at both sites were included in the anaemia analysis. Using the haematocrit or haemoglobin level as the reference standard, the correctness of assessments using severe and some pallor and other clinical signs in classifying severe and some anaemia was determined. While the full IMCI process would have referred most of the children in Uganda and nearly all the children in Bangladesh with severe anaemia to hospital, few would have received a

diagnosis of severe anaemia. Severe palmar and conjunctival pallor, individually and together, had 10-50% sensitivity and 99% specificity for severe anaemia; the addition of grunting increased the sensitivity to 37-80% while maintaining a reasonable positive predictive value. Palmar pallor did not work as well as conjunctival pallor in Bangladesh for the detection for severe or some anaemia. Combining "conjunctival or palmar pallor" detected 71-87% of moderate anaemia and half or more of mild anaemia. About half the children with no anaemia were incorrectly classified as having "moderate or mild" anaemia. Anaemia was more easily diagnosed in Uganda in children with malaria. Our results show that simple clinical signs can correctly classify the anaemia status of most children. Grunting may serve as a useful adjunct to pallor in the diagnosis of severe anaemia. Conjunctival pallor should be added to the IMCI anaemia box, or the guidelines need to be adapted in regions where palmar pallor may not readily be detected.

A. H. Kilian, W. G. Metzger, E. J. Mutschelknauss, G. Kabagambe, P. Langi, R. Korte and F. von Sonnenburg. Reliability of malaria microscopy in epidemiological studies: results of quality control. *Trop.Med.Int.Health*. 2000/01;5(1):3-8.

To assess the interrater reproducibility of malaria microscopy in epidemiological studies, 711 thick blood films from population-based surveys were randomly selected and reread by 4 experienced microscopists. Sample estimates of the prevalence of *P. falciparum* infection, geometric mean parasite density and the proportion of samples above various parasite density cut-off levels were almost identical in the routine and quality control readings. Differences were, however, encountered in the sample estimates for gametocyte ratio, proportion of mixed infection and average density index. In all three cases the quality control result was significantly higher than the routine evaluation. On the level of the individual slide there was good interrater agreement for the presence of *P. falciparum* infections (Kappa index kappa = 0.79) which was even better when parasite densities between 4 and 100/microl were excluded (kappa = 0.94). With respect to the assessment of parasite density, a high level of disagreement was found. While the mean difference between the two readings was not different from 0, the second reading was between 0.12 and 10 times that of the first. However, the level of disagreement significantly fell with increasing parasite densities. Thus malaria microscopy is very reliable for the estimation of parasite ratios and geometric mean parasite densities within and between studies as long as the same methodology is used, but tends to underestimate the gametocyte ratio and proportion of mixed infections. Care must be taken, however, when individual parasite density is related to other explanatory variables, due to the high degree of variability in the parasite enumeration.

K. A. Koram, S. Owusu-Agyei, G. Utz, F. N. Binka, J. K. Baird, S. L. Hoffman and F. K. Nkrumah. Severe anemia in young children after high and low malaria transmission seasons in the Kassena-Nankana district of northern Ghana. *Am J Trop Med Hyg*. 2000 Jun;62(6):670-4.

Malaria and anemia accounted for 41% and 18% respectively of hospital deaths in the Kassena-Nankana district of northern Ghana during 1996. We measured hemoglobin (Hb), malaria prevalence, and anthropometric indices of 6--24-month-old infants and young children randomly selected from this community at the end of the high (May-October, n = 347) and low (November-April, n = 286) malaria transmission seasons. High transmission season is characterized by rainfall (the equivalent of 800-900 mm/yr.), while the remaining months receive less than 50 mm/yr. Severe anemia, defined as Hb < 6.0 g/dL, was 22.1% at the end of the high transmission season compared to 1.4% at the end of the low transmission season (Odds Ratio [OR] = 20.1; 95% CI: 7.1-55.3). Parasitemia was 71% and 54.3% at these time points (OR = 2.1; 95% CI: 1.5-2.9). Nutritional anemia appeared to have little impact upon this seasonal difference since anthropometric indices were comparable. Although the relative contributions of other causes of

severe anemia were not assessed, repeated malaria infections may be a primary determinant of severe anemia among infants and young children during the high transmission season.

J. A. Kurtzhals, M. M. Addae, B. D. Akanmori, S. Dunyo, K. A. Koram, M. A. Appawu, F. K. Nkrumah and L. Hviid. Anaemia caused by asymptomatic *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune African schoolchildren. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 1999/11;93(6):623-627.

A cohort of 250 Ghanaian schoolchildren aged 5-15 years was followed clinically and parasitologically for 4 months in 1997/98 in order to study the effect of asymptomatic *Plasmodium falciparum* infections on haematological indices and bone-marrow responses. Of the 250 children 65 met the predefined study criteria. Thus, 14 children were parasite-free throughout (group 1), 44 had *P. falciparum* in all blood samples collected but no symptoms of malaria (group 2), and 7 had 1 malaria attack during the study period (group 3). At the end of the study the mean haemoglobin (Hb) level in group 1 was 123 g/L, significantly higher than the value of 114 g/L in groups 2 and 3 ( $P < 0.02$ , adjusted for age and splenomegaly). The low Hb in group 2 was associated with subnormal plasma iron. Low Hb was associated with elevated erythropoietin (EPO) levels, and there was a positive correlation between EPO and reticulocyte counts. However, the reticulocyte response to EPO was more pronounced in uninfected than in infected children, suggesting a partial interference with erythropoiesis in asymptomatic infections. Children with asymptomatic infections had significantly higher plasma levels of tumour necrosis factor than uninfected children (geometric means 50 ng/L and 27 ng/L, respectively,  $P < 0.001$ ) and this cytokine may contribute to bone-marrow suppression and disturbed iron metabolism. We suggest that asymptomatic malaria leads to a homeostatic imbalance in which erythrocyte loss due to parasite replication is only partially compensated for by increased erythropoiesis. The consequences of the reduced Hb levels on the development and cognitive abilities of children with asymptomatic infections, and the risk of precipitation of iron deficiency, deserve further study and should be considered in malaria control programmes that aim at reducing morbidity rather than transmission.

C. J. Kwiatkowski D, Manogue KR, Cerami A, Dinarello CA, Greenwood BM. Tumour necrosis factor production in *Falciparum* malaria and its association with schizont rupture. *Clin Exp Immunol.*1989; Sep(77(3)):361-6.

To investigate the involvement of tumour necrosis factor (TNF) in human malaria, we studied TNF production in patients infected with *Plasmodium falciparum*, and in co-cultures of human mononuclear cells and malaria parasites in vitro. In the examined sample, plasma TNF levels of over 39 pg/ml were detected in the plasma of 59% of Gambian children with acute malaria, 17% of convalescents, 9% of children with mild infections other than malaria, and 7% of healthy Gambian adults. Mononuclear cells of acute malaria patients, when stimulated with endotoxin in vitro, secreted twice as much TNF as did those of convalescent individuals, and three times that of healthy adult controls. Erythrocytic cultures of *P. falciparum* stimulated increased TNF secretion by mononuclear cells from uninfected individuals, and a sharp rise in the rate of secretion occurred shortly after schizont rupture. We suggest that malaria fever is mediated, at least in part, through paroxysmal TNF release associated with schizont rupture.

E. M. Lackritz, C. C. Campbell, T. K. Ruebush, A. W. Hightower, W. Wakube, R. W. Steketee and J. B. Were. Effect of blood transfusion on survival among children in a Kenyan hospital. *Lancet.* 1992/08/29;340(8818):524-528.

In Africa, blood transfusions are frequently given to treat severe paediatric anaemia. Because of the risk of HIV transmission, identification of when transfusion will reduce the risk of death for

severely anaemic children has become increasingly important. For all children admitted to a Kenyan hospital from October, 1989, to October, 1990, we collected data on clinical presentation, haemoglobin (Hb), receipt of transfusion, and in-hospital survival. Of 2433 admissions, 29% (684) had severe anaemia (Hb less than 5.0 g/dl), and 20% (483) received blood transfusions. Based on laboratory criteria only, children with Hb less than 3.9 g/dl who were transfused had lower mortality than those with Hb less than 3.9 g/dl who were not transfused, but this finding applied only to children transfused on the day of admission (odds ratio [OR] 0.30; 95% CI 0.14, 0.61) or the day after admission (OR 0.37; 95% CI 0.14, 1.00). Based on a combination of laboratory and clinical criteria, children with clinical signs of respiratory distress and Hb less than 4.7 g/dl who were transfused had lower mortality than those who were not (OR 0.19; 95% CI 0.09, 0.41). Among children without respiratory distress, there was no association between receipt of transfusion and mortality, irrespective of admission Hb. The frequency of blood transfusion can be reduced and survival enhanced by targeting blood to those children with severe anaemia and clinical signs of respiratory distress, and by using transfusion early in the course of hospitalisation.

E. M. Lackritz, A. W. Hightower, J. R. Zucker, T. K. Ruebush, C. O. Onudi, R. W. Steketee, J. B. Were, E. Patrick and C. C. Campbell. Longitudinal evaluation of severely anemic children in Kenya: the effect of transfusion on mortality and hematologic recovery. *AIDS*. 1997 /1;11(12):1487-1494.

**OBJECTIVE:** To determine the effect of transfusion on hematologic recovery and mortality among severely anemic children during and after hospitalization in rural Kenya. **DESIGN:** Prospective cohort. **METHODS:** We collected clinical and laboratory information on all severely anemic children (hemoglobin < 5.0 g/dl) and a 33% sample of children with hemoglobin < or = 5.0 g/dl who were admitted to the pediatric ward of a rural Kenyan hospital during a 6 month study period. Children were followed during hospitalization and at 4 and 8 weeks after admission. **RESULTS:** Overall, 303 (25%) of the 1223 hospitalized children had hemoglobin < 5.0 g/dl, 30% of whom died during the study period. Severely anemic children who were transfused had a higher mean hemoglobin level at discharge (9.0 g/dl) than non-transfused children (5.8 g/dl,  $P < 0.001$ ) and maintained a higher mean hemoglobin during the 8-week follow-up period. However, the presence of malaria parasitemia on follow-up negated the benefit of transfusion on hematologic recovery at both 4- and 8-week visits (longitudinal linear model, least square means,  $P > 0.05$ ). Transfusion was associated with improved survival among children with respiratory distress who received transfusions within the first 2 days of hospitalization. **CONCLUSIONS:** The use of transfusion can be improved by targeting use of blood to severely anemic children with cardiorespiratory compromise, improving immediate availability of blood, and treating severely anemic children with effective antimalarial therapy.

K. A. Lindblade, I. Katungu and M. L. Wilson. Fever and malaria in highland Uganda. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 2001/09;95(5):502-503.

K. A. Lindblade, D. B. O'Neill, D. P. Mathanga, J. Katungu and M. L. Wilson. Treatment for clinical malaria is sought promptly during an epidemic in a highland region of Uganda. *Trop.Med.Int Health.* 2000 /12;5(12):865-875.

Early diagnosis of malaria followed by appropriate treatment can help reduce related morbidity and mortality as well as interrupt transmission. Previous studies of household responses to malaria have tended to focus on endemic areas where the burden of this disease is greatest. With the apparent increasing frequency of epidemics in African highlands, a better understanding of treatment behaviours in areas of unstable transmission may be important to future public health interventions. This study was undertaken following a serious epidemic of malaria in the highlands of south-western Uganda. Our objectives were to characterize actions taken by both adults and caretakers of children < or =5 years old during their most recent episode of self-diagnosed malaria, and to identify factors that were associated with prompt treatment at a health facility. A survey of 300 households selected in a 2-stage cluster sampling procedure produced 453 adult respondents and 133 caretakers of children < or =5 years old. We found that almost 65% of adults and 62% of children who had experienced an episode of malaria in the last year (most during the epidemic) had sought treatment from a health facility first as opposed to self-treatment. Most of these people had visited the health facility within 1 day of symptom onset. By the end of their malaria episode, over 87% of adults and 80% of children had visited a health facility at least once. Factors associated with prompt presentation at a health facility included severity of illness, household proximity to a health facility, and knowledge of malaria prevention methods. Our results indicate that there is an important role for the formal health care system in mitigating morbidity and mortality and reducing transmission during malaria epidemics in Uganda.

C. Luxemburger, F. Nosten, D. E. Kyle, L. Kiricharoen, T. Chongsuphajaisiddhi and N. J. White. Clinical features cannot predict a diagnosis of malaria or differentiate the infecting species in children living in an area of low transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1998 Jan-Feb;92(1):45-9.

The differentiation of malaria from other causes of fever in the absence of microscopy is notoriously difficult. Clinical predictors of malaria have been studied in an area of low and unstable transmission on the western border of Thailand. In 1527 children aged 2-15 years who were followed prospectively for 7 months, 82% (1254) had at least one febrile episode. Malaria caused 24% (301) of the first febrile episodes (*Plasmodium falciparum* 128, *P. vivax* 151, *P. malariae* 1, mixed infections with *P. falciparum* and *P. vivax* 21). Each malaria case was matched with the next child of similar age presenting to the dispensary with another cause of fever. Clinical symptoms or signs associated with a final diagnosis of malaria were: confirmed fever (> or = 38 degrees C) (odds ratio [OR] 1.6, 95% confidence interval [95% CI] 1.4-1.9), headache (OR 1.5, 95% CI 1.3-1.9), muscle and/or joint pain (OR 2.0, 95% CI 1.6-2.8), nausea (OR 1.7, 95% CI 1.4-2.3), clinical anaemia (OR 1.4, 95% CI 1.3-3.3), palpable spleen (OR 1.3, 95% CI 1.1-1.7), palpable liver (OR 1.4, 95% CI 1.1-2.1), absence of cough (OR 1.6, 95% CI 1.4-2.0), and absence of diarrhoea (OR 1.5, 95% CI 1.2-2.4). None of these signs alone or in combination proved a good predictor of malaria. The best diagnostic algorithms (history of fever and headache without cough, and history of fever with an oral temperature > or = 38 degrees C [sensitivity 51% for both, specificity 72 and 71%, respectively]) would result in prescription of antimalarial drugs in 28-29% of the non-malaria febrile episodes, and only 49% of the true malaria cases. Thus half of the potentially life-threatening *P. falciparum* infections would not be treated. Although multivariate analysis identified vomiting, confirmed fever, splenomegaly and hepatomegaly as independent risk factors for a diagnosis of *falciparum* malaria, use of these signs to differentiate *falciparum* from *vivax* malaria, and thus to determine antimalarial treatment, was insufficiently sensitive or specific. Malaria diagnosis should be confirmed by microscopical examination of a blood slide or the use of specific dipstick tests in areas of low transmission where highly drug-resistant *P. falciparum* coexists with *P. vivax*.

P. Magnussen, B. Ndawi, A. K. Sheshe, J. Byskov and K. Mbwana. Malaria diagnosis and treatment administered by teachers in primary schools in Tanzania. *Trop.Med.Int Health*. 2001/04;6(4):273-279.

A school health programme in Mwera Division, Pangani District included treatment of malaria attacks occurring in children during school time. A combination of symptoms (headache, muscle/joint pains, feeling feverish) and oral temperature  $\geq 37.5$  degrees C was used for the diagnosis of malaria. Chloroquine (25 mg/kg given over 3 days) was used for treatment. Malariometric surveys on children aged 7-15 years (mean 10 years) were conducted once a year (1995-1997). *Plasmodium falciparum* accounted for 100% of infections and the parasite prevalence varied between 32.7 and 35.3% from 1995 to 1997. The number of malaria cases (cases/1000 registered school children) diagnosed and treated by school teachers was 159 (67) in 1995, 324 (124) in 1996, 348 (128) in 1997 and 339 (108) in 1998. Children in grades 1-4 (age 7-13) accounted for 64.6% of cases. Symptoms and oral temperature were recorded for 1258 children. Of those, 992 (78.9%) complained of fever and at least one other symptom when presenting to teachers, 98 (7.8%) had fever as their only complaint and 168 (13.5%) presented without a perception of fever, but with other symptoms. Of these children, 36 (21.4%) had a temperature  $\geq 37.5$  degrees C. The sensitivity of "feeling feverish" was 96.5% with a specificity of 54.5%. The positive predictive value of feeling feverish was 89.9% and the negative predictive value 78.6%. Blood slides were prepared from 55.3 and 37.2% of children diagnosed by teachers during 1995 and 1996, respectively, and 71.4% were found positive. Among children who fulfilled the algorithm criteria 75.0% had a positive blood slide. With little training and regular supervision it was feasible for school teachers to make a presumptive diagnosis of malaria. We conclude that teachers can play a major role in school health programmes and are willing to be involved in health matters as long as they are supported by health and educational authorities.

K. Marsh, D. Forster, C. Waruiru, I. Mwangi, M. Winstanley, V. Marsh, C. Newton, P. Winstanley, P. Warn, N. Peshu and . Indicators of life-threatening malaria in African children. *N.Engl.J.Med*. 1995/05/25;332(21):1399-1404.

**BACKGROUND.** About 90 percent of the deaths from malaria are in African children, but criteria to guide the recognition and management of severe malaria have not been validated in them. **METHODS.** We conducted a prospective study of all children admitted to the pediatric ward of a Kenyan district hospital with a primary diagnosis of malaria. We calculated the frequency and mortality rate for each of the clinical and laboratory criteria in the current World Health Organization (WHO) definition of severe malaria, and then used logistic-regression analysis to identify the variables with the greatest prognostic value. **RESULTS.** We studied 1844 children (mean age, 26.4 months) with a primary diagnosis of malaria. Not included were 18 children who died on arrival and 4 who died of other causes. The mortality rate was 3.5 percent (95 percent confidence interval, 2.7 to 4.3 percent), and 84 percent of the deaths occurred within 24 hours of admission. Logistic-regression analysis identified four key prognostic indicators: impaired consciousness (relative risk, 3.3; 95 percent confidence interval, 1.6 to 7.0), respiratory distress (relative risk, 3.9; 95 percent confidence interval, 2.0 to 7.7), hypoglycemia (relative risk, 3.3; 95 percent confidence interval, 1.6 to 6.7), and jaundice (relative risk, 2.6; 95 percent confidence interval, 1.1 to 6.3). Of the 64 children who died, 54 were among those with impaired consciousness (n = 336; case fatality rate, 11.9 percent) or respiratory distress (n = 251; case fatality rate, 13.9 percent), or both. Hence, this simple bedside index identified 84.4 percent of the fatal cases, as compared with the 79.7 percent identified by the current WHO criteria. **CONCLUSIONS.** In African children with malaria, the presence of impaired consciousness or respiratory distress can identify those at high risk for death.

A. Marx, D. Pewsner, M. Egger, R. Nuesch, H. C. Bucher, B. Genton, C. Hatz and P. Juni. Meta-analysis: accuracy of rapid tests for malaria in travelers returning from endemic areas. *Ann Intern Med.* 2005 May 17;142(10):836-46.

**BACKGROUND:** Microscopic diagnosis of malaria is unreliable outside specialized centers. Rapid tests have become available in recent years, but their accuracy has not been assessed systematically. **PURPOSE:** To determine the accuracy of rapid diagnostic tests for ruling out malaria in nonimmune travelers returning from malaria-endemic areas. **DATA SOURCES:** The authors searched MEDLINE, EMBASE, CAB Health, and CINAHL (1988 to September 2004); hand-searched conference proceedings; checked reference lists; and contacted experts and manufacturers. **STUDY SELECTION:** Diagnostic accuracy studies in nonimmune individuals with suspected malaria were included if they compared rapid tests with expert microscopic examination or polymerase chain reaction tests. **DATA EXTRACTION:** Data on study and patient characteristics and results were extracted in duplicate. The main outcome was the likelihood ratio for a negative test result (negative likelihood ratio) for *Plasmodium falciparum* malaria. Likelihood ratios were combined by using random-effects meta-analysis, stratified by the antigen targeted (histidine-rich protein-2 [HRP-2] or parasite lactate dehydrogenase [LDH]) and by test generation. Nomograms of post-test probabilities were constructed. **DATA SYNTHESIS:** The authors included 21 studies and 5747 individuals. For *P. falciparum*, HRP-2-based tests were more accurate than parasite LDH-based tests: Negative likelihood ratios were 0.08 and 0.13, respectively ( $P = 0.019$  for difference). Three-band HRP-2 tests had similar negative likelihood ratios but higher positive likelihood ratios compared with 2-band tests (34.7 vs. 98.5;  $P = 0.003$ ). For *P. vivax*, negative likelihood ratios tended to be closer to 1.0 for HRP-2-based tests than for parasite LDH-based tests (0.24 vs. 0.13;  $P = 0.22$ ), but analyses were based on a few heterogeneous studies. Negative likelihood ratios for the diagnosis of *P. malariae* or *P. ovale* were close to 1.0 for both types of tests. In febrile travelers returning from sub-Saharan Africa, the typical probability of *P. falciparum* malaria is estimated at 1.1% (95% CI, 0.6% to 1.9%) after a negative 3-band HRP-2 test result and 97% (CI, 92% to 99%) after a positive test result. **LIMITATIONS:** Few studies evaluated 3-band HRP-2 tests. The evidence is also limited for species other than *P. falciparum* because of the few available studies and their more heterogeneous results. Further studies are needed to determine whether the use of rapid diagnostic tests improves outcomes in returning travelers with suspected malaria. **CONCLUSIONS:** Rapid malaria tests may be a useful diagnostic adjunct to microscopy in centers without major expertise in tropical medicine. Initial decisions on treatment initiation and choice of antimalarial drugs can be based on travel history and post-test probabilities after rapid testing. Expert microscopy is still required for species identification and confirmation.

D. P. Mason, F. Kawamoto, K. Lin, A. Laoboonchai and C. Wongsrichanalai. A comparison of two rapid field immunochromatographic tests to expert microscopy in the diagnosis of malaria. *Acta Trop.* 2002/04;82(1):51-59.

In Myanmar, we tested two rapid malaria immunochromatographic kits: the OptiMAL assay for the detection of parasite lactate dehydrogenase (pLDH), and the ICT Malaria P.f./P.v. test for histidine-rich protein 2 (PfHRP2) and panmalarial antigens. A total of 229 patients were examined, of whom 133 were found to be malaria positive by Giemsa microscopy. Both OptiMAL and ICT gave lower sensitivities than previously reported. ICT sensitivity for *Plasmodium falciparum* and non-*falciparum* parasites were 86.2 and 2.9%, respectively; specificity was 76.9 and 100%, respectively. OptiMAL sensitivity for *P. falciparum* and non-*falciparum* parasites were 42.6 and 47.1%, respectively; specificity was 97.0 and 96.9%, respectively. The sensitivity of both tests for the detection of both *P. falciparum* and non-*falciparum* parasites increased with parasite density. Several explanations for these results are explored. Our results raise particular concern over batch quality variations of malaria rapid diagnostic devices (MRDDs).

P. D. McElroy, A. A. Lal, W. A. Hawley, P. B. Bloland, F. O. Kuile, A. J. Oloo, S. D. Harlow, X. Lin and B. L. Nahlen. Analysis of repeated hemoglobin measures in full-term, normal birth weight Kenyan children between birth and four years of age. III. The Asemobo Bay Cohort Project. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999 /12;61(6):932-940.

Anemia is an important public health problem. During very early childhood numerous factors affect hemoglobin (Hb) concentration over time, making single cross-sectional measurements difficult to interpret when studying the natural history of anemia or evaluating anemia control strategies. We analyzed repeated Hb measures contributed by 942 Kenyan children between birth and 48 months of life using a mixed effects model, with a regression spline used to describe the population mean Hb profile, and random intercepts and slopes and first-order autoregressive correlation structure to accommodate the within-individual correlation among the repeated Hb measures. The approach facilitates the study of time-stationary and time-varying covariates that influence Hb in early life. The fitted mean Hb profile obtained from the analytic model is consistent with the observed mean Hb of the study population. Village of residence was associated with greatest difference in mean Hb at time of birth (16 versus 19 g/dL;  $P < 0.0001$ ). Monthly weight-for-age was also associated with mean Hb after 3 months of age. This is the first description of an analysis strategy specifically for repeated Hb measures collected in a longitudinal field study in Africa. The strategy will facilitate improved study of time-varying covariates thought to influence pediatric anemia.

P. D. McElroy, F. O. ter Kuile, A. A. Lal, P. B. Bloland, W. A. Hawley, A. J. Oloo, A. S. Monto, S. R. Meshnick and B. L. Nahlen. Effect of *Plasmodium falciparum* parasitemia density on hemoglobin concentrations among full-term, normal birth weight children in western Kenya, IV. The Asembo Bay Cohort Project. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 2000/04;62(4):504-512.

The relative importance of acute high-density versus persistent low-density *Plasmodium falciparum* parasitemia in contributing to the public health problem of malarial anemia remains unclear. The Asembo Bay Cohort Project in western Kenya collected monthly hemoglobin (Hb) and parasitologic measurements and biweekly assessments of antimalarial drug use among 942 singleton live births between 1992 and 1996. A mixed-model analysis appropriate for repeated measures data was used to study how time-varying parasitemia and antimalarial drug exposures influenced mean Hb profiles. Incidence of World Health Organization-defined severe malarial anemia was 28.1 per 1,000 person-years. Among children aged less than 24 months, concurrent parasitemia was significantly associated with lower mean Hb, especially when compared to children with no concurrent parasitemia. Increased densities of the 90-day history of parasitemia preceding Hb measurement was more strongly associated with mean Hb levels than concurrent parasitemia density. While the highest quartile of 90-day parasitemia history was associated with lowest mean Hb levels, children in the lowest 90-day exposure quartile still experienced significantly lower Hb levels when compared to children who remained parasitemia-free for the same 90-day period. The results highlight the importance of collecting and analyzing longitudinal Hb and parasitologic data when studying the natural history of malarial anemia.

D. McGuinness, K. Koram, S. Bennett, G. Wagner, F. Nkrumah and E. Riley. Clinical case definitions for malaria: clinical malaria associated with very low parasite densities in African infants. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 1998/09/92(5):527-531.

In areas endemic for *Plasmodium falciparum*, clinical malaria is believed to be less common in infants than in older children, but specific case definitions have rarely been determined for this age group. As malaria case definitions are known to be both age- and site-specific, assessment of the risk of disease in infancy requires the development of appropriate diagnostic criteria. In southern

Ghana, 154 children were recruited at birth and monitored for fever and malaria infection until 2 years of age. Logistic regression was used to model fever risk as a continuous function of parasite density to determine case definitions for the diagnosis of clinical malaria, and to determine age- and season-specific estimates of the fraction of fevers attributable to malaria (AF); 2360 observations were made on 154 children. For fevers defined by a measured temperature  $\geq 37.5$  degrees C, the estimated population AF was 44% (95% confidence interval 34-53). Estimates of AF varied with age and season. For infants, AF was 51% during the wet season and 22% during the dry season; for children over one year of age, AF was 89% during the wet season and 36% during the dry season. The estimated parasite density threshold for initiation of a febrile episode was 100 parasites per microL of blood in infants, compared with 3500 parasites per microL for children over one year of age. Using these case definitions, the incidence of clinical malaria was estimated at 0.09 cases per child-year at risk for children less than 6 months of age, 0.40 for children aged 6-11 months, and 0.69 for children aged 12-23 months. Of 66 cases of clinical malaria, only 3 were observed in children under 5 months of age. We concluded that, although most fevers in infants are not due to malaria, infant clinical malaria may occur at extremely low parasite densities. This may be indicative of a lack of anti-disease immunity in this age group. In southern Ghana, an infant with axillary temperature  $\geq 37.5$  degrees C and parasitaemia  $\geq 100/\text{microL}$  should be considered to have clinical malaria. Nevertheless, the incidence of clinical malaria is very low in children under 6 months of age, confirming that they are significantly protected from clinical malaria compared to older children.

C. Menendez, E. Kahigwa, R. Hirt, P. Vounatsou, J. J. Aponte, F. Font, C. J. Acosta, D. M. Schellenberg, C. M. Galindo, J. Kimario, H. Urassa, B. Brabin, T. A. Smith, A. Y. Kitua, M. Tanner and P. L. Alonso. Randomised placebo-controlled trial of iron supplementation and malaria chemoprophylaxis for prevention of severe anaemia and malaria in Tanzanian infants. *Lancet*. 1997/09/20/;350(9081):844-850.

**BACKGROUND:** Malaria and anaemia, especially that due to iron deficiency, are two leading causes of morbidity worldwide. Little is known about the relative contribution of *Plasmodium falciparum* infection and iron deficiency to the aetiology of anaemia in malaria-endemic areas. We undertook a randomised comparison of different strategies for control of anaemia and malaria in infants, including an assessment of the effect of iron supplementation on malaria susceptibility.

**METHODS:** 832 infants born at one hospital in a malaria-hyperendemic area of Tanzania between January and October, 1995, were randomly assigned to group DI, receiving daily oral iron (2 mg/kg daily) plus weekly Deltaprim (3.125 mg pyrimethamine plus 25 mg dapsons); group IP, receiving iron plus weekly placebo; group DP, receiving daily placebo plus weekly Deltaprim; or group PP. supplementation was given from 8 to 24 weeks of age, and the weekly chemoprophylaxis from 8 to 48 weeks. The frequency of severe anaemia (packed-cell volume  $< 25\%$ ) and malaria episodes was assessed through a combination of passive case detection and cross-sectional surveys.

**FINDINGS:** The groups that received iron supplementation had a lower frequency of severe anaemia than those that did not receive iron (0.62 vs 0.87 cases per person-year; protective efficacy 28.8% [95% CI 6.3-45.8]). Iron supplementation had no effect on the frequency of malaria (0.87 vs 1.00 cases per person-year; protective efficacy 12.8% [-12.8 to 32.5]). The groups that received malaria prophylaxis had lower frequencies of both severe anaemia (0.45 vs 1.04 episodes per person-year; protective efficacy 57.3% [43.0-67.9]) and malaria (0.53 vs 1.34 episodes per person-year; protective efficacy 60.5% [48.2-69.9]) than the groups that did not receive prophylaxis. After the end of the intervention period, children who had received malaria chemoprophylaxis had higher rates of severe anaemia and malaria than non-chemoprophylaxis groups (relative risks 2.2 [1.3-3.7] and 1.8 [1.3-2.6]).

**INTERPRETATION:** Malaria chemoprophylaxis during the first year of life was effective in prevention of malaria and anaemia but apparently impaired the development of natural immunity. Iron supplementation was effective in preventing severe anaemia without increasing susceptibility to malaria. Our findings support iron supplementation of infants to prevent iron-deficiency anaemia, even in malaria-endemic areas

P. Mens, N. Spieker, S. Omar, M. Heijnen, H. Schallig and P. A. Kager. Is molecular biology the best alternative for diagnosis of malaria to microscopy? A comparison between microscopy, antigen detection and molecular tests in rural Kenya and urban Tanzania. *Trop Med Int Health*. 2007 Feb;12(2):238-44.

**OBJECTIVE:** To assess the agreement of different diagnostic methods for the diagnosis and confirmation of the clinical suspicion of Plasmodium infection in children in Tanzania and Kenya. **METHOD:** Blood samples were collected by the finger prick method from 338 children. Blood samples were collected from 338 children with the clinical suspicion of uncomplicated malaria in health clinics in Tanzania and Kenya. The presence of Plasmodium parasites was assessed with microscopy, rapid diagnostic tests (RDTs) and the molecular assays, quantitative nucleic acid sequence based amplification (QT-NASBA) and polymerase chain reaction (PCR). The results were compared and analysed for agreement. **RESULTS:** There was a high degree of agreement (88.6-100%) between RDTs or molecular tests and microscopy. In rural Kenya, with a high incidence of malaria cases, the correlation coefficient ranged from 0.94 for RDTs to 0.76 for PCR. In urban Tanzania, where there was a low incidence of cases, R for RDTs was 1.0 but only 0.25 for PCR and 0.33 for NASBA. **CONCLUSION:** Malaria is overestimated if the diagnosis is based solely on clinical signs. Therefore, laboratory confirmation is essential. Microscopy is a reliable method in rural areas where malaria is prevalent, but RDTs offer a good alternative with the advantage that it is an easy and rapid method. Molecular tests are more sensitive but difficult to implement in rural areas. In areas with lower incidence, molecular tests detect a significantly higher number of Plasmodium infections than RDTs or microscopy. Although implementation of molecular tools can be difficult, the prospect of an easy and cheap detection system makes them promising tools for the near future.

D. Metselaar. Two malaria surveys in the central mountains of Netherlands New Guinea. *Am J Trop Med Hyg*. 1959 May;8(3):364-7.

C. B. Mogensen, J. Soerensen, A. Bjorkman and S. M. Montgomery. Algorithm for the diagnosis of anaemia without laboratory facilities among small children in a malaria endemic area of rural Tanzania. *Acta Trop*. 2006 Oct;99(2-3):119-25.

**BACKGROUND:** Anaemia among small children in tropical Africa is common and often caused by infection with Plasmodium falciparum. The diagnosis of anaemia is difficult without a laboratory estimation of haemoglobin. The aim of this study was to examine if clinical findings related to malaria and anaemia would help to detect moderate and/or severe anaemia in children in rural Tanzania. **METHODS:** Children between 6 and 36 months were examined by health workers in an Out Patient Department (OPD) to detect severe anaemia (packed cell volume, PCV < or =20%) and in a cross sectional survey at village level to identify moderate anaemia (PCV 21-25%). History of recent fever and treatments was recorded and a clinical examination was performed. **FINDINGS:** In the survey, comparison of 65 moderately anaemic children with 373 mild/non anaemic children revealed no differences in history of fever or in the clinical examination. In the OPD comparison of 100 severely anaemic children with 116 non-severely anaemic control children revealed that pallor, respiratory rate, number of fever days last week, deteriorated general condition, heart rate, age, splenomegaly, low body weight and elevated body temperature were all indicators of severe anaemia, only pallor, respiratory rate, fever days and palpable spleen however, remained associated with severe anaemia in multiple regression analysis. The combination of any pallor and either respiratory rate >55/min or fever >3 days, could predict severe anaemia with a sensitivity of 96% and a specificity of 71%. This was better than the currently recommended signs

of severe pallor or an approximation of the Integrated Management of Childhood Illness (IMCI) criteria's for referral of children. INTERPRETATION: At primary health care level detection of severe anaemia can be improved by information about fever duration and determination of respiratory rate in children with pallor.

L. Molineaux. Malaria and mortality: some epidemiological considerations. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 1997/10;91(7):811-825.

Malaria can, a priori, kill on its own ('direct' malaria mortality) or in conjunction with some other cause(s) ('indirect' malaria mortality). There are three distinct approaches to the measurement of malaria mortality: (1) measurement of malaria-specific mortality (based on attributing each death to a single cause) or its surrogate, the admission rate for life-threatening malaria; (2) measurement of the reduction in all-cause mortality after removal (or near removal) of malaria; and (3) the estimation of the malaria mortality required to explain the observed frequency of the HbS gene. There is a strong indication that approaches (2) and (3) yield estimates of total (direct and indirect) malaria mortality which are at least twice as high as those obtained using approach (1), which probably measures mostly direct malaria mortality. There is currently a controversy about the long-term impact on mortality of reducing the intensity of malaria transmission from 'high' to 'intermediate', given the expected loss of immunity. Certain geographical comparisons (of the results of 'nature's experiment') indicate that, when the intensity of transmission is high, the incidence of life-threatening malaria falls. However, the seasonal variation in the intensity of transmission decreases with increases in the intensity; low seasonal variation is probably beneficial, allowing a smoother transition from passive to active immunity, but is unlikely to be reversed by preventive measures. It also seems likely that geographical comparisons produce estimates of predominantly direct mortality, which might not run in parallel with the indirect mortality. A tentative numerical exploration of the problem, using a simple demographic model, indicates that, if indirect malaria mortality is important and the other causes of death are concentrated in early life, the long-term impact on all-cause mortality of reducing exposure (although less than the short-term) will probably always be beneficial, even if there is some increase in direct malaria mortality.

A. Moody. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin.Microbiol.Rev.* 2002 /01;15(1):66-78.

Malaria presents a diagnostic challenge to laboratories in most countries. Endemic malaria, population movements, and travelers all contribute to presenting the laboratory with diagnostic problems for which it may have little expertise available. Drug resistance and genetic variation has altered many accepted morphological appearances of malaria species, and new technology has given an opportunity to review available procedures. Concurrently the World Health Organization has opened a dialogue with scientists, clinicians, and manufacturers on the realistic possibilities for developing accurate, sensitive, and cost-effective rapid diagnostic tests for malaria, capable of detecting 100 parasites/microl from all species and with a semiquantitative measurement for monitoring successful drug treatment. New technology has to be compared with an accepted "gold standard" that makes comparisons of sensitivity and specificity between different methods. The majority of malaria is found in countries where cost-effectiveness is an important factor and ease of performance and training is a major consideration. Most new technology for malaria diagnosis incorporates immunochromatographic capture procedures, with conjugated monoclonal antibodies providing the indicator of infection. Preferred targeted antigens are those which are abundant in all asexual and sexual stages of the parasite and are currently centered on detection of HRP-2 from *Plasmodium falciparum* and parasite-specific lactate dehydrogenase or *Plasmodium* aldolase from the parasite glycolytic pathway found in all species. Clinical studies allow effective comparisons between different formats, and the reality of nonmicroscopic diagnoses of malaria is considered

L. Muhe, B. Oljira, H. Degefu, F. Enquesellassie and M. W. Weber. Clinical algorithm for malaria during low and high transmission seasons. *Arch.Dis.Child.* 1999/09;81(3):216-220.

**OBJECTIVES:** To assess the proportion of children with febrile disease who suffer from malaria and to identify clinical signs and symptoms that predict malaria during low and high transmission seasons. **STUDY DESIGN:** 2490 children aged 2 to 59 months presenting to a health centre in rural Ethiopia with fever had their history documented and the following investigations: clinical examination, diagnosis, haemoglobin measurement, and a blood smear for malaria parasites. Clinical findings were related to the presence of malaria parasitaemia. **RESULTS:** Malaria contributed to 5.9% of all febrile cases from January to April and to 30.3% during the rest of the year. Prediction of malaria was improved by simple combinations of a few signs and symptoms. Fever with a history of previous malarial attack or absence of cough or a finding of pallor gave a sensitivity of 83% in the high risk season and 75% in the low risk season, with corresponding specificities of 51% and 60%; fever with a previous malaria attack or pallor or splenomegaly had sensitivities of 80% and 69% and specificities of 65% and 81% in high and low risk settings, respectively. **CONCLUSION:** Better clinical definitions are possible for low malaria settings when microscopic examination cannot be done. Health workers should be trained to detect pallor and splenomegaly because these two signs improve the specificity for malaria.

I. Muller, M. Bockarie, M. Alpers and T. Smith. The epidemiology of malaria in Papua New Guinea. *Trends Parasitol.* 2003/06;19(6):253-259.

Papua New Guinea (PNG) is a patchwork of different ecological zones, inhabited by human populations of exceptional cultural and linguistic diversity. This results in complex variations in vector ecology and malaria epidemiology. Malaria is the main cause of morbidity in many health facilities in lowland areas, but it is absent in much of the highlands. All four human malaria species occur, but endemicity varies widely, with *Plasmodium falciparum* locally reaching holo-endemic levels that are rarely found outside sub-Saharan Africa. The high frequency of *Plasmodium vivax* is an important difference to most African situations. PNG is therefore a prime location for studies of interactions between different parasite species, and of the biology of local human genetic adaptation and its implications for malaria morbidity and mortality.

S. C. Murphy and J. G. Breman. 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.* 2001/01;64(1-2 Suppl):57-67.

Evaluations of the African childhood malaria burden do not fully quantify the contributions of cerebral malaria (CM), CM-associated neurological sequelae, malarial anemia, respiratory distress, hypoglycemia, and pregnancy-related complications. We estimated the impact of these malaria manifestations on members of the African population < 5 years old. Calculations were based on an extensive literature review that used National Library of Medicine search engines, other bibliographic sources, and demographic data. In sub-Saharan Africa, CM annually affects 575,000 children < 5 years of age and 110,000 (approximately 19% case fatality rate [CFR]) die. Childhood survivor, of CM experience developmental and behavioral impairments: each year, 9,000-19,000 children (> 2% of survivors of CM) < 5 years of age in Africa experience neurological complications lasting > 6 months. Severe malarial anemia heavily burdens hospitals with rising admission and CFRs and with treatments that are complicated by limited and sometimes contaminated blood supplies. Severe malarial anemia occurs 1.42-5.66 million times annually and kills 190,000-974,000 (> 13% CFR) children < 5 years of age annually. Respiratory distress, hypoglycemia, and overlapping clinical manifestations cause 1.12-1.99 million cases and > 225,000 (> 18% CFR) additional deaths among African children with malaria. Maternal, placental, or fetal malaria infection during pregnancy adversely affects development and survival of fetuses and newborns

through low birth weight (LBW), maternal anemia, and possibly abortion and stillbirth. Between 167,000 and 967,000 cases of malaria-associated LBW occur yearly; malaria-induced LBW kills 62,000-363,000 (> 38% CFR) newborns each year. All the gaps in the burden comprise 0.4-1.7 million deaths annually, > 50% of which are due to severe malarial anemia. These malaria-induced medical problems constitute major clinical, public health, and research challenges in that they may contribute to more than double the mortality than is generally acknowledged.

C. K. Murray, D. Bell, R. A. Gasser and C. Wongsrichanalai. Rapid diagnostic testing for malaria. *Trop.Med.Int.Health*. 2003/10;8(10):876-883.

Malaria rapid diagnostic devices (MRDD) have been developed with the hope that they would offer accurate, reliable, rapid, cheap and easily available alternatives to traditional methods of malaria diagnosis. The results from early malaria rapid diagnostic studies were quite promising, especially for detecting *Plasmodium falciparum* at densities of more than 100-500 parasites/microl. Despite the introduction of these devices over a decade ago, only a few target antigens have been introduced. Of greater concern, these devices have shown limitations in sensitivity, ability to differentiate species and robustness under field conditions in the tropics. Recent trials have revealed wide variability in sensitivity both within and between products. We review the recent trials assessing MRDD use for the diagnosis of *P. falciparum* and non-*P. falciparum* infections in endemic and non-endemic countries and describe the various aspects of these devices which need further improvement. High quality, accurate, rapid and affordable diagnostic tools are urgently needed now that new antimalarial regimens, characterized by higher cost and increased toxicity, have been introduced more widely in response to emerging multi-drug resistance.

T. W. Mwangi, M. Mohammed, H. Dayo, R. W. Snow and K. Marsh. Clinical algorithms for malaria diagnosis lack utility among people of different age groups. *Trop Med Int Health*. 2005 Jun;10(6):530-6.

We conducted a study to determine whether clinical algorithms would be useful in malaria diagnosis among people living in an area of moderate malaria transmission within Kilifi District in Kenya. A total of 1602 people of all age groups participated. We took smears and recorded clinical signs and symptoms (prompted or spontaneous) of all those presenting to the study clinic with a history of fever. A malaria case was defined as a person presenting to the clinic with a history of fever and concurrent parasitaemia. A set of clinical signs and symptoms (algorithms) with the highest sensitivity and specificity for diagnosing a malaria case was selected for the age groups  $\leq 5$  years, 6-14 years and  $\geq 15$  years. These age-optimized derived algorithms were able to identify about 66% of the cases among those  $< 15$  years of age but only 23% of cases among adults. Were these algorithms to be used as a basis for a decision on treatment among those presenting to the clinic, 16% of children  $\leq 5$  years, 44% of those 6-14 years of age and 66% of the adults who had a history of fever and parasitaemia  $\geq 5000$  parasites/microl of blood would be sent home without treatment. Clinical algorithms therefore appear to have little utility in malaria diagnosis, performing even worse in the older age groups, where avoiding unnecessary use of anti-malarials would make more drugs available to the really needy population of children under 5 years of age.

M. Ndao, E. Bandyayera, E. Kokoskin, T. W. Gyorkos, J. D. MacLean and B. J. Ward. Comparison of blood smear, antigen detection, and nested-PCR methods for screening refugees from regions where malaria is endemic after a malaria outbreak in Quebec, Canada. *J.Clin.Microbiol.* 2004 /06/42(6):2694-2700.

The importation of malaria into a region where it is not endemic raises many concerns, including the timely delivery of appropriate care, safety of the blood supply, and the risk of autochthonous transmission. There is presently no consensus on the best way to screen mobile populations for malaria. Between August 2000 and March 2001, 535 refugees arrived in Quebec, Canada, from Tanzanian camps. Within 4 weeks of resettlement of the first group of 224, the McGill University Centre for Tropical Diseases noted an outbreak of malaria across the province (15 cases over a 3-week period). This group (group 1) was traced and screened for malaria between 3 and 4 months after arrival in Canada. Subsequent groups of 106 and 205 refugees were screened immediately upon arrival in Canada (group 2) and immediately prior to their departure from refugee camps (group 3), respectively. A single EDTA-blood sample was obtained from 521 refugees for testing by thick and thin blood smears (groups 1 and 2), antigen detection (ICT Malaria Pf and OptiMAL; group 1 only), and nested PCR (all groups). Overall, 98 of 521 refugees were found to be infected (18.8%). The vast majority of infections (81 of 98) were caused by *Plasmodium falciparum* alone. Using PCR as the "gold standard," both microscopy (sensitivity, 50%; specificity, 100%) and antigen detection (ICT sensitivity, 37.5%; ICT specificity, 100%; OptiMAL sensitivity, 29.1%; OptiMAL specificity, 95.6%) performed poorly. None of the PCR-positive subjects were symptomatic at the time of testing, and only two had recently had symptoms compatible with malaria (with or without diagnosis and treatment). Active surveillance of migrants from regions of intense malaria transmission can reduce the risk of morbidity in the migrant population and mitigate against transmission to the host population. Our data demonstrate that PCR is, by far, the most powerful tool for such surveillance.

O. Ndiaye, J. Y. Hesran, J. F. Etard, A. Diallo, F. Simondon, M. N. Ward and V. Robert. [Climate variability and number of deaths attributable to malaria in the Niakhar area, Senegal, from 1984 to 1996]. *Sante.* 2001 Jan-Feb;11(1):25-33.

There are a number of reasons why climate, in certain physical and social environments, could have an impact on the epidemiology of malaria. Events, such as floods or drought, are related to the number of malaria cases and deaths, both seasonally and interannually. At a smaller scale, this study analyses the relation between climate variability and the variability in the number of deaths attributable to malaria in Niakhar, Senegal. The Niakhar area has a population of 30,000 and has been under demographic surveillance system since 1984. The rainfall in this region is highly seasonal, with a rainfall maximum in August and almost no rain between October/November and May/June. In addition to this seasonal cycle, rainfall also varies greatly from year to year (interannual variation). Over the 13 years, there were 661 deaths attributed to malaria with a marked interannual variability (range from 23 to 100, with a median of 43). There was also a strong seasonality in mortality, with nearly all deaths (89.1%) occurring between August and December. The number of deaths peaks in October, two months after the rainfall peak. Standardised monthly values were calculated for each climatic series (rainfall, relative humidity, temperature) as well as standardised five-month and monthly values of the number of deaths attributed to malaria between August and December. Correlation coefficients were calculated between these standardised values. The correlation between the variability in August rainfall and the variability in the number of deaths attributed to malaria between August and December was positive and statistically significant ( $r = +0.61$ ,  $p = 0.02$ ). In addition, highly significant cross-correlations were found between monthly rainfall series and monthly mortality series at one- and two-month lag ( $r = +0.43$ ,  $p = 0.0004$  for one-month lag;  $r = +0.26$ ,  $p = 0.03$  for two-month lag). This correlation is somewhat lower than the correlation of August rainfall alone with August to December mortality, but the result adds confidence to the signal given the increased degrees of freedom in the analysis. Similar, but slightly weaker, results were found when precipitation data were replaced with surface humidity

data. Results with temperature were less clear; while temperature could in some circumstances have a direct impact on malaria, in this case here it is possible that the weak negative correlation between malaria deaths and temperature arises mainly because precipitation is physically connected to both the indices, correlating positively with malaria and negatively with temperature. The availability of a continuous demographic and medical survey since 1984 in a region of highly variable rainfall has created a rare opportunity to analyse with some confidence a climate versus malaria relationship. The findings are consistent with our understanding of the proposed link between rainfall and conditions for the reproduction of the malaria vector, leading to a lag time (here of one to two months) between anomalies of rainfall and deaths attributable to malaria. These results may have practical implications in Sub-Saharan regions marked by a great seasonal and interannual variability in rainfall by providing a simple tool to forecast the impact of climate variability on malaria mortality.

R. Ndyomugenyi, P. Magnussen and S. Clarke. Diagnosis and treatment of malaria in peripheral health facilities in Uganda: findings from an area of low transmission in south-western Uganda. *Malar J.* 2007;6:39.

**BACKGROUND:** Early recognition of symptoms and signs perceived as malaria are important for effective case management, as few laboratories are available at peripheral health facilities. The validity and reliability of clinical signs and symptoms used by health workers to diagnose malaria were assessed in an area of low transmission in south-western Uganda. **METHODS:** The study had two components: 1) passive case detection where all patients attending the out patient clinic with a febrile illness were included and 2) a longitudinal active malaria case detection survey was conducted in selected villages. A malaria case was defined as any slide-confirmed parasitaemia in a person with an axillary temperature  $\geq 37.5$  degrees C or a history of fever within the last 24 hrs and no signs suggestive of other diseases. **RESULTS:** Cases of malaria were significantly more likely to report joint pains, headache, vomiting and abdominal pains. However, due to the low prevalence of malaria, the predictive values of these individual signs alone, or in combination, were poor. Only 24.8% of 1627 patients had malaria according to case definition and  $> 75\%$  of patients were unnecessarily treated for malaria and few slide negative cases received alternative treatment. **CONCLUSION:** In low-transmission areas, more attention needs to be paid to differential diagnosis of febrile illnesses. In view of suggested changes in anti-malarial drug policy, introducing costly artemisinin combination therapy accurate, rapid diagnostic tools are necessary to target treatment to people in need.

D. Njama-Meya, T. D. Clark, B. Nzarubara, S. Staedke, M. R. Kanya and G. Dorsey. Treatment of malaria restricted to laboratory-confirmed cases: a prospective cohort study in Ugandan children. *Malar J.* 2007;6:7.

**BACKGROUND:** Presumptive treatment of malaria in febrile children is widely advocated in Africa. This may occur in the absence of diagnostic testing or even when diagnostic testing is performed but fails to detect malaria parasites. Such over-treatment of malaria has been tolerated in the era of inexpensive and safe monotherapy. However, with the introduction of new artemisinin-based combination therapy (ACT), presumptive treatment becomes economically and clinically less acceptable. **METHODS:** The risks and benefits of only treating children with microscopy confirmed malaria using a prospective cohort design were investigated. A representative sample of 601 children between one and 10 years of age were recruited from a census population in Kampala, Uganda and were followed for all of their health care needs in a study clinic. Standard microscopy was performed each time a child presented with a new episode of fever and antimalarial therapy given only if the blood smear was positive. **RESULTS:** Of 5,895 visits for new medical problems 40% were for febrile illnesses. Of the 2,359 episodes of new febrile illnesses, blood smears were initially reported as negative in 1,608 (68%) and no antimalarial therapy was given. Six of these

initially negative smears were reported to be positive following quality control reading of all blood smears: four of these patients were subsequently diagnosed with uncomplicated malaria and two cleared their parasites without antimalarial treatment. Of the 1,602 new febrile illnesses in which the final blood smear reading was classified as negative, only 13 episodes (0.8%) were diagnosed with malaria in the subsequent 7 days. All 13 of these episodes of malaria were uncomplicated and were successfully treated. CONCLUSION: In this urban setting, malaria was responsible for only 32% of febrile episodes. Withholding antimalarial therapy in febrile children with negative blood smears was safe and saved over 1,600 antimalarial treatments in 601 children over an 18-month period. In the era of expensive ACT, directing resources towards improving diagnostic and treatment practices may provide a cost-effective measure for promoting rational use of antimalarial therapy.

S. E. Nsimba, A. Y. Masele, J. Eriksen, L. L. Gustafsson, G. Tomson and M. Warsame. Case management of malaria in under-fives at primary health care facilities in a Tanzanian district. *Trop.Med.Int Health*. 2002/03;7(3):201-209.

OBJECTIVE: To study case management of malaria in children under 5 years of age at primary health care facilities in Kibaha district, Tanzania and to evaluate the accuracy of self-reported mothers'/guardians' information on chloroquine use in children. METHOD: A random sample of 652 mothers/guardians with sick children under 5 years of age attending 10 primary health care facilities was observed and interviewed. Blood samples for determination of chloroquine levels were taken from all children and thick smears for detection of malaria parasites were taken from the children who were prescribed chloroquine. Information on diagnoses and prescriptions was collected from recording books. RESULTS: Fever and respiratory problems were the most common complaints and accounted for 75% and 46% of the presenting conditions, respectively (some complained of both). Fifty-four per cent of the children received medication at home, most commonly antipyretics and chloroquine, 20% had been taken to another health facility and 3% to traditional healers before coming to the health facilities. There was a significantly higher use of antipyretics among home treated children compared with those taken previously to health facilities ( $P \leq 0.001$ ). Use of antibiotics was higher among children who had been taken to health facilities previously ( $P < 0.0001$ ). Nine per cent had received injections. The average consultation time was 3.8 min. Thirty-nine per cent of the children were physically examined, with large interfacility variations. In 71% of the children malaria was diagnosed, either as a single condition or in combination with others, and with respiratory problems as the leading overlapping condition (29%). Malaria parasites were found in 38% of the cases given a malaria diagnosis. A total of 81% of the health facility prescriptions included analgesics, 71% chloroquine and 54% antibiotics. A fourth of all prescriptions were injections. The proportions of chloroquine and antibiotic injections in relation to the total number of prescriptions varied between the facilities. Of the 529 blood samples successfully analysed for chloroquine, 98% had detectable blood drug levels. Ninety-seven per cent of the children without history of prior chloroquine treatment had detectable drug levels in the blood, 11% had high levels ( $\geq 1000$  nmol/l). Of those prescribed chloroquine, 16% already had high blood concentrations of the drug. CONCLUSION: Health care services, i.e. presumptive malaria diagnosis, consultation time and procedure for physical examination need to be improved.

L. B. Ochola, P. Vounatsou, T. Smith, M. L. Mabaso and C. R. Newton. The reliability of diagnostic techniques in the diagnosis and management of malaria in the absence of a gold standard. *Lancet Infect Dis*. 2006 Sep;6(9):582-8.

The accuracy of techniques for the diagnosis of malaria are usually compared with optical microscopy, which is considered to be a gold standard. However, microscopy is prone to error and therefore makes it difficult to assess the reliability of other diagnostic techniques. We did a systematic review to assess the specificity and sensitivity of diagnostic techniques in different

settings, using a statistical method that avoided defining a gold standard. Performance varied depending on species of the malaria parasite, level of parasitaemia, and immunity. Overall, histidine-rich protein 2 (HRP2)-based dipsticks showed a high sensitivity (92.7%) and specificity (99.2%) for *Plasmodium falciparum* in endemic areas. The acridine orange test was more sensitive (97.1%) in detecting *P. falciparum* in epidemiological studies, with a specificity of 97.9%. In the absence of a gold standard, HRP2 dipsticks and acridine orange could provide an alternative for detecting *falciparum* infections in endemic areas and epidemiological studies, respectively. Microscopy still remains more reliable in detecting non-*falciparum* infections.

B. O. Olaleye, L. A. Williams, U. D'Alessandro, M. M. Weber, K. Mulholland, C. Okorie, P. Langerock, S. Bennett and B. M. Greenwood. Clinical predictors of malaria in Gambian children with fever or a history of fever. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 1998 /05;92(3):300-304.

Diagnosis of malaria in children is difficult without laboratory support because the symptoms and signs of malaria overlap with those of other febrile illnesses such as pneumonia. Nevertheless, in many parts of Africa diagnosis of malaria must be made without laboratory investigation. Therefore, a scoring system has been developed to assist peripheral health care workers in making this diagnosis. Four hundred and seven Gambian children aged 6 months to 9 years who presented to a rural clinic with fever or a recent history of fever were investigated. A diagnosis of malaria was made in 159 children who had a fever of 38 degrees C or more and malaria parasitaemia of 5000 parasites/microL or more. Symptoms and signs in children with malaria were compared with those in children with other febrile illnesses to identify features which predicted malaria. Symptoms and signs were incorporated into various logistic regression models to test which were best independent predictors of malaria and these regression models were used to construct simple scoring systems which predicted malaria. A nine terms model predicted clinical malaria with a sensitivity of 89% and a specificity of 61%, values comparable to those obtained by an experienced paediatrician without laboratory support. The ability of peripheral health care workers to diagnose malaria using this approach is now being investigated in a prospective study.

M. Olivar, M. Develoux, A. Chegou Abari and L. Loutan. Presumptive diagnosis of malaria results in a significant risk of mistreatment of children in urban Sahel. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991 Nov-Dec;85(6):729-30.

N. Oster, E. Krause and C. Hatz. Towards a rational malaria management at district hospital level: exploratory case series of febrile adult patients in a holoendemic area of Tanzania. *Trop.Doct.* 2000 /10;30(4):203-207.

One hundred and sixty eight febrile adult outpatients were investigated at St Francis Designated District Hospital in fakara, a holoendemic area in Tanzania. We wanted to assess the potential anamnestic and clinical risk indicators for malaria and to establish a rational strategy for malaria management. Blood slide investigations showed that 14% of all patients were positive for *P. falciparum*. All the positive cases were found during the rainy season. No reliable criteria for malaria were found in the history taking and physical examinations. Signs and symptoms of respiratory tract infection such as difficulties during breathing, sore throat, chest pain, cough, pathological findings in lung auscultation and combinations of these were negatively associated with malaria parasitaemia. The same was true for lymph node swelling and a clinical diagnosis other than malaria. Quality control of blood slide results from the hospital revealed a sensitivity of 55%, a specificity of 72%, and positive and negative predictive values of 24% and 91%. The main recommendations for malaria management in adults were to improve the quality of blood slide examinations and to use a different diagnostic strategy during the dry and rainy seasons. During

the dry season blood slides of febrile adult patients should only be performed if there is a suspicion of malaria and antimalarial drugs should only be administered if blood slide results are positive. During the rainy season all febrile adults without obvious cause of fever other than malaria should be treated with antimalarials without previous blood slide examination.

S. Owusu-Agyei, T. Smith, H. P. Beck, L. Amenga-Etego and I. Felger. Molecular epidemiology of *Plasmodium falciparum* infections among asymptomatic inhabitants of a holoendemic malarious area in northern Ghana. *Trop.Med.Int.Health.* 2002 /05/7(5):421-428.

Age dependence of malaria infection was assessed in an age-stratified cluster sample of 308 individuals from Kassena-Nankana District of northern Ghana during June and July 2000. Overall prevalence of *Plasmodium falciparum* by microscopy was 70%, with the maximum among 5-9 year olds. Parasite density was highest (geometric mean 1922/microl blood) in 1-2 year olds. Eighty-two per cent of samples were positive by polymerase chain reaction (PCR), and restriction fragment length polymorphism typing of the *P. falciparum* msp2 revealed a mean msp2 multiplicity of 3.4 (range: 1-8) genotypes per PCR positive sample. Multiplicity increased with age until 5-9 years and then started to reduce again into adulthood. About 49.3% of infections belonged to the msp2 FC27 allelic family and 50.7% to the 3D7 family. On the day of the survey, only 3.6% of the participants had fever (axillary temperature  $\geq 37.5$  degrees C) and 2.3% had fever associated with parasitaemia. The correlation between parasite density and msp2 multiplicity was 0.42; highest among infants, and decreased with age to a minimum among 5-9 year olds. Contrasting with results from Tanzania, this correlation increased with age in adolescents and adults. Parasite multiplicity is very high in this community, and the patterns of age dependence are similar to those in other holoendemic sites in Africa, validating the use of the age-multiplicity relationship as an indicator of malaria endemicity.

F. Pagnoni, N. Convelbo, J. Tiendrebeogo, S. Cousens and F. Esposito. A community-based programme to provide prompt and adequate treatment of presumptive malaria in children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1997 Sep-Oct;91(5):512-7.

A community-based programme to ensure prompt and adequate treatment of presumptive episodes of clinical malaria in children has been established in a rural province of Burkina Faso. The implementation strategy was based on training a core group of mothers in every village and supplying community health workers with essential antimalarial drugs specially packed in age-specific bags containing a full course of treatment. Drugs were sold under a cost-recovery scheme. The programme was run in 1994 by the national malaria control centre (CNLP), and in 1995 it was developed to the provincial health team (PHT). Knowledge and awareness of malaria increased with the intervention. Drug consumption by age group was compatible with the distribution of disease, and no major problem of misuse emerged. The actual implementation costs of the intervention were US\$ 0.06 per child living in the province. An evaluation of the impact of the intervention on the severity of malaria, using routine data from the health information system and taking as an indicator the proportion of malaria cases which were recorded as severe in health centres, was performed. In 1994, when the intervention was implemented on a provincial scale by CNLP, this proportion was lower than the average of the 4 preceding years (3.7% vs. 4.9%). In 1995, when the programme was implemented by the PHT, the proportion of severe cases was lower in health centres achieving a programme coverage of  $\geq 50\%$  in their catchment area compared with the others (4.2% vs. 6.1%). Our experience shows that a low-cost, community-based intervention aimed at providing children with prompt and adequate treatment of presumptive episodes of clinical malaria is feasible, and suggests that it may lead to a reduction in the morbidity from severe malaria.

T. V. Perneger, T. Szeless and A. Rougemont. Utility of the detection of Plasmodium parasites for the diagnosis of malaria in endemic areas. *BMC Infect Dis.* 2006;6:81.

**BACKGROUND:** In populations where the prevalence of infection with Plasmodium parasites is high, blood tests that identify Plasmodium parasites in patients with fever may lead to false positive diagnosis of malaria-disease. We characterised the diminishing value of the parasite detection test as a function of the prevalence of infection. **METHODS:** We computed the ability of the parasite detection test to identify malaria at various levels of prevalence (0% to 90%), assuming plausible estimates of sensitivity (95% and 85%) and specificity (99% and 95%) for the detection of parasites. In each situation, we computed likelihood ratios of malaria (or absence of malaria) for positive and negative parasite detection tests. Likelihood ratios were classified as clinically useful (> or = 10), intermediate (5-10), or unhelpful (<5). **RESULTS:** Likelihood ratios of positive tests were strongly related to the prevalence of infection in the general population: a positive test was unhelpful when the prevalence was 20% or more, and useful only when prevalence was 5% or less. The sensitivity and specificity of the test had little influence on these results. Likelihood ratios of negative tests were clinically useful when prevalence was 70% or less, but only for high levels of sensitivity (95%). If sensitivity was low (85%), the negative test was at best of intermediate utility, and was unhelpful if the prevalence of asymptomatic infection exceeded 30%. **CONCLUSION:** Identification of Plasmodium parasites supports a diagnosis of malaria only in areas where the prevalence of Plasmodium infection is low. Wherever this prevalence exceeds about 20%, a positive test is clinically unhelpful.

E. Petersen, B. Høgh, N. T. Marbiah, E. Dolopaie, A. Gottschau, A. P. Hanson and A. Bjorkman. Clinical and parasitological studies on malaria in Liberian adults living under intense malaria transmission. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 1991/12;85(6):577-584.

Occurrence of fevers and chills, headaches and body and joint pains, and body temperature and malaria parasitaemias were recorded monthly for a year for 121 Liberian adults. There was no apparent correlation between any of the symptoms and the presence or density of blood parasites; it was therefore not possible to define a case of clinical malaria in the study population, which was probably highly immune to infection. Only a few people with patent blood infections had elevated blood temperatures and these were below 37.5 degrees C. Malaria prevalence and levels of parasitaemia declined with age and indicated that immunity continues to develop well into adult age. The data did not support the view that adults experience symptoms at lower parasitaemias than children. Pregnant and non-pregnant women had similar levels of symptoms, but high levels of parasitaemia were found more frequently in the pregnant group.

R. E. Phillips and G. Pasvol. Anaemia of Plasmodium falciparum malaria. *Baillieres Clin.Haematol.* 1992/04;5(2):315-330.

The pathophysiology of the anaemia of falciparum malaria is both complex and multifactorial, and results in a condition which is a major cause of mortality and morbidity in patients, especially children and pregnant women, living in malarial endemic areas. The importance of anaemia as a cause of death in malaria may well be underestimated because of difficulty in diagnosis, especially where parasitaemia may be low and the clinical picture may be confused with other causes of anaemia. Two clinical presentations predominate: severe acute malaria in which anaemia supervenes, and severe anaemia in patients in whom there have been repeated attacks of malaria. The major mechanisms are those of red cell destruction and decreased red cell production. Potential causes of haemolysis include loss of infected cells by rupture or phagocytosis, removal of uninfected cells due to antibody sensitization or other physicochemical membrane changes, and

increased reticuloendothelial activity, particularly in organs such as the spleen. Decreased production results from marrow hypoplasia seen in acute infections, and dyserythropoiesis, a morphological appearance, which in functional terms results in ineffective erythropoiesis. The role of parvovirus B19 as a possible cause of bone marrow aplasia in a few cases is postulated. Finally, there is now evidence which points to genetic factors, HLA associated, which may protect against the development of malarial anaemia and which has become common in areas endemic for malaria.

R. E. Phillips and T. Solomon. Cerebral malaria in children. *Lancet*. 1990 /12/01/;336(8727):1355-1360.

Cerebral malaria is a rapidly progressive encephalopathy with up to 50% mortality. A cardinal feature is the massing of red cells containing mature *Plasmodium falciparum* within the cerebral capillaries. Adhesion of these parasitised red cells to endothelium, an event which may initiate cerebral malaria, is being studied at the molecular level. However, the relevance of these studies to the pathophysiology and treatment of human cerebral malaria is uncertain. Although chloroquine is still widely used to treat *falciparum* malaria, resistance has spread to most of the endemic zone. Quinine is emerging as the only effective treatment for cerebral malaria, though resistance to this drug threatens to become a problem. Alternative drugs are urgently needed.

K. S. Planche T, Kombila M, Engel K, Faucher JF, Ngou-Milama E, Kremsner PG. *Am J Trop Med Hyg*. Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. 2001 Nov; (65(5)):599-602.

Rapid diagnosis and accurate quantification of *Plasmodium falciparum* parasitemia are important for the management of malaria. The assessment of disease severity also depends on evaluation of metabolic indexes such as blood glucose and lactate concentrations. Here we describe an accurate and rapid alternative to conventional thick film examination (Lambaréné method). We also assess near-patient methods for measuring blood glucose (OneTouch) and lactate (Accusport). The accuracy of the Lambaréné method is similar to that of thin films. Results from the OneTouch glucose meter also are in good agreement with a YSI 2300 reference meter. Overall, the Accusport lactate meter agrees poorly with the YSI 2300 reference meter. However, the sensitivity and specificity to detect hyperlactatemia (blood lactate  $\geq 5$  mmol/L) are 0.94 and 0.98, respectively.

Z. Premji, Y. Hamisi, C. Shiff, J. Minjas, P. Lubega and C. Makwaya. Anaemia and *Plasmodium falciparum* infections among young children in an holoendemic area, Bagamoyo, Tanzania. *Acta Trop*. 1995/03/;59(1):55-64.

Although the aetiology of anaemia in tropical areas is multifactorial, *Plasmodium falciparum* malaria is commonly associated with anaemia in children living in holoendemic malaria areas. Such an association was examined in a population based study of 338 children 6 to 40 months of age living in the Bagamoyo area of Tanzania. Stepwise regression analysis showed that fever and parasitaemia were effective in predicting anaemia and that the anaemic condition was age dependent. The majority of the children were iron deficient, followed by normochromic macrocytic anaemias. There was strong evidence in this age group that the anaemia was associated with malaria and not geohelminth infection. The importance of malaria and anaemia as a cause of childhood morbidity in Africa is discussed. This condition has taken on new significance with the

realization that blood transfusions commonly used to treat severe anaemia are a major vehicle for Human Immunodeficiency Virus (HIV) transmission.

R. N. Price, J. A. Simpson, F. Nosten, C. Luxemburger, L. Hkirjaroen, F. ter Kuile, T. Chongsuphajaisiddhi and N. J. White. Factors contributing to anemia after uncomplicated falciparum malaria. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 2001/11;65(5):614-622.

The factors contributing to anemia in falciparum malaria were characterized in 4,007 prospectively studied patients on the western border of Thailand. Of these, 727 patients (18%) presented with anemia (haematocrit < 30%), and 1% (55 of 5,253) required blood transfusion. The following were found to be independent risk factors for anemia at admission: age < 5 years, a palpable spleen, a palpable liver, recrudescence infections, being female, a prolonged history of illness (> 2 days) before admission, and pure *Plasmodium falciparum* infections rather than mixed *P. falciparum* and *Plasmodium vivax* infections. The mean maximum fractional fall in hematocrit after antimalarial treatment was 14.1% of the baseline value (95% confidence interval [CI], 13.6-14.6). This reduction was significantly greater in young children (aged < 5 years) and in patients with a prolonged illness, high parasitemia, or delayed parasite clearance. Loss of parasitized erythrocytes accounted for < 10% of overall red blood cell loss. Hematological recovery was usually complete within 6 weeks, but it was slower in patients who were anemic at admission (adjusted hazards ratio [AHR], 1.9, 95% CI, 1.5-2.3), and those whose infections recrudescence (AHR, 1.2, 95% CI, 1.01-1.5). Half the patients with treatment failure were anemic at 6 weeks compared with 19% of successfully treated patients (relative risk, 2.8, 95% CI, 2.0-3.8). Patients coinfecting with *P. vivax* (16% of the total) were 1.8 (95% CI, 1.2-2.6) times less likely to become anemic and recovered 1.3 (95% CI, 1.0-1.5) times faster than those with *P. falciparum* only. Anemia is related to drug resistance and treatment failure in uncomplicated malaria. Children aged < 5 years of age were more likely than older children or adults to become anemic. Coinfection with *P. vivax* attenuates the anemia of falciparum malaria, presumably by modifying the severity of the infection.

H. L. Proux S, Ngamngonkiri C, McConnell S, Nosten F. Paracheck-Pf: a new, inexpensive and reliable rapid test for *P. falciparum* malaria. *Trop Med Int Health* 2001;Feb;6(2):99-101.

We compared the performance of Paracheck-Pf, a new and cheap rapid malaria test, with ICT-Pf/PvR and microscopy in two malaria surveys in Thai villages on the Thai-Burmese border. The specificity, sensitivity, predictive positive and negative values of the Paracheck-PfR and ICT-PfR tests were calculated taking microscopy results as the gold standard. The 294 ICT-Pf/Pv tests resulted in two invalid (no control line) and 11 doubtful results. Both the ICT-Pf/PvR and Paracheck-PfR tests reliably detected *P. falciparum* infections. However, Paracheck-PfR failed to detect three *P. falciparum* cases and likewise, ICT-Pf/PvR failed to detect the same three cases and an additional four cases. These seven cases were detected by microscopy and had a parasitaemia under 150 parasites/microl. At a cost of c. US \$1.00, the Paracheck-PfR test, based on the detection of the *P. falciparum* specific HRP-2 protein, is a reliable, easy to use and affordable tool for the diagnosis of *P. falciparum* malaria.

D. Prybylski, A. Khaliq, E. Fox, A. R. Sarwari and G. T. Strickland. Parasite density and malaria morbidity in the Pakistani Punjab. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999 /11;61(5):791-801.

The relationship between quantitative *Plasmodium falciparum* or *P. vivax* parasitemia and clinical illness has not been defined in Pakistan or in other areas where malaria transmission is not highly endemic. Standardized questionnaires were given to and physical examinations and parasitologic

tests were performed in 8,941 subjects seen in outpatient clinics in 4 villages for 13 consecutive months in the Punjab region of Pakistan. The results, based on multivariable analysis, showed that a clinical diagnosis of malaria, a history of fever, rigors, headache, myalgia, elevated temperature, and a palpable spleen among children were all strongly associated with the presence and density of *P. falciparum* or *P. vivax* malaria in a monotonic dose-response fashion. The malaria attributable fraction of a clinical diagnosis of malaria, and the same symptoms and signs also increased with increasing *P. falciparum* and, to a lesser extent, *P. vivax*, parasitemia. Unlike in sub-Saharan Africa, clinical illness due to malaria often occurs in the Punjab among adolescents and adults and in patients with parasite densities less than 1,000/microl. Clinical guidelines based upon parasitemia and symptomatology must be adjusted according to the intensity of transmission and be specific for each geographic area.

S. C. Redd, P. B. Bloland, P. N. Kazembe, E. Patrick, R. Tembenu and C. C. Campbell. Usefulness of clinical case-definitions in guiding therapy for African children with malaria or pneumonia. *Lancet*. 1992 /11/0;340(8828):1140-1143.

The World Health Organisation has developed disease-specific clinical case-definitions to guide management of children with fever or cough, the cardinal signs of malaria and pneumonia. To assess the usefulness of the case-definitions and to investigate their interaction, we studied children with fever or cough brought to a hospital in Lilongwe, Malawi. For all children, a thick blood smear was examined for *Plasmodium falciparum* parasites. Chest radiography was done only for children with parasitaemia and those who satisfied the clinical case-definition for pneumonia; others were assumed to have normal chest radiographs. Of 1599 enrolled children, 566 (35%) had parasitaemia and 116 had radiographic evidence of pneumonia; 43 had both pneumonia and parasitaemia. Of the 471 children who met the clinical definition for pneumonia, 449 (95%) also met the malaria clinical definition. Among children with radiographic evidence of pneumonia, the clinical definition for malaria was not predictive of parasitaemia (sensitivity 93%, specificity 5%). Whether malaria parasitaemia was present or absent, the pneumonia clinical definition distinguished children with and without radiographic evidence of pneumonia (sensitivity and specificity > 60%). Children who satisfied the pneumonia clinical definition were more likely to have radiographic evidence of pneumonia (odds ratio 10.4, 95% confidence interval 5.2-20.7), parasitaemia (1.6, 1.2-2.2), or both at the same time (4.2, 2.1-8.4) than were children who did not meet the definition. Children who satisfy the malaria and pneumonia clinical definitions need treatment for both disorders. Scarce diagnostic methods, especially microscopy, are needed for more specific treatment of children with fever and cough.

S. C. Redd, P. N. Kazembe, S. P. Luby, O. Nwanyanwu, A. W. Hightower, C. Ziba, J. J. Wirima, L. Chitsulo, C. Franco and M. Olivar. Clinical algorithm for treatment of *Plasmodium falciparum* malaria in children. *Lancet*. 1996 Jan 27;347(8996):223-7.

**BACKGROUND:** Identification of children who need antimalarial treatment is difficult in settings where confirmatory laboratory testing is not available, as in much of sub-Saharan Africa. The current national policy in Malawi is to treat all children with fever, usually defined as the mother's report of fever in the child, for presumed malaria. To assess this policy and to find out whether a better clinical case definition could be devised, we studied acutely ill children presenting to two hospital outpatient departments in Malawi. **METHODS:** The parent or guardian of each enrolled child (n = 1124) was asked a standard series of questions about the symptoms and duration of the child's illness. Each child was examined, axillary and rectal temperatures and blood haemoglobin concentrations were measured, and a giemsa-stained thick smear was examined for malaria parasites. Logistic regression procedures were used to identify clinical predictors of parasitaemia. **FINDINGS:** High temperature (37.7 degrees C or above), nailbed pallor, enlarged spleen, and being seen at one of the clinics rather than the other were associated with an increased risk of

malaria parasitaemia in univariate analyses. A revised malaria case definition of rectal temperature of 37.7 degrees C or higher, splenomegaly, or nailbed pallor was 85% sensitive in identifying parasitaemic children and 41% specific; the corresponding sensitivity and specificity for the nationally recommended definition that equates mother's history of fever with malaria were 93% and 21%. The revised case definition had 89% sensitivity in identifying parasitaemic children with haemoglobin concentration below 80 g/L and 89% sensitivity in identifying children with parasite density greater than 10,000/microL, characteristics that indicate a clear need for antimalarial treatment. INTERPRETATION: These results suggest that better clinical definitions are feasible, that splenomegaly and pallor are helpful in identifying children with malaria, and that much overtreatment of children without parasitaemia could be avoided.

H. Reyburn, R. Mbatia, C. Drakeley, J. Bruce, I. Carneiro, R. Olomi, J. Cox, W. M. Nkya, M. Lemnge, B. M. Greenwood and E. M. Riley. Association of transmission intensity and age with clinical manifestations and case fatality of severe *Plasmodium falciparum* malaria. *JAMA*. 2005 /03/23/;293(12):1461-1470.

CONTEXT: There are concerns that malaria control measures such as use of insecticide-treated bed nets, by delaying acquisition of immunity, might result in an increase in the more severe manifestations of malaria. An understanding of the relationships among the level of exposure to *Plasmodium falciparum*, age, and severity of malaria can provide evidence of whether this is likely. OBJECTIVE: To describe the clinical manifestations and case fatality of severe *P falciparum* malaria at varying altitudes resulting in varying levels of transmission. DESIGN, SETTING, AND PATIENTS: A total of 1984 patients admitted for severe malaria to 10 hospitals serving populations living at levels of transmission varying from very low (altitude >1200 m) to very high (altitude <600 m) in a defined area of northeastern Tanzania, studied prospectively from February 2002 to February 2003. Data were analyzed in a logistic regression model and adjusted for potential clustering within hospitals. MAIN OUTCOME MEASURES: Specific syndromes of severe malaria; mortality. RESULTS: The median age of patients was 1 year in high transmission, 3 years in moderate transmission, and 5 years in low transmission areas. The odds of severe malarial anemia (hemoglobin <5 g/dL) peaked at 1 year of age at high transmission and at 2 years at moderate and low transmission intensities and then decreased with increasing age (P = .002). Odds were highest in infants (0-1 year: referent; 2-4 years: odds ratio [OR], 0.83; 95% confidence interval [CI], 0.72-0.96), 5 to <15 years: OR, 0.44; 95% CI, 0.27-0.72; > or =15 years: OR, 0.44; 95% CI, 0.27-0.73; P<.001) and high transmission intensity areas (altitude <600 m: referent; 600 m to 1200 m: OR, 0.55; 95% CI, 0.35-0.84; >1200 m: OR, 0.55; 95% CI, 0.26-1.15; P for trend = .03). The odds of cerebral malaria were significantly higher in low transmission intensity areas (altitude of residence <600 m: referent; 600 m to 1200 m: OR, 3.17; 95% CI, 1.32-7.60; >1200 m: OR, 3.76; 95% CI, 1.96-7.18; P for trend = .003) and with age 5 years and older (0-1 year: referent; 2-4 years: OR, 1.57; 95% CI, 0.82-2.99; 5 to <15 years: OR, 6.07; 95% CI, 2.98-12.38; > or =15 years: OR, 6.24; 95% CI, 3.47-11.21; P<.001). The overall case-fatality rate of 7% (139 deaths) was similar at high and moderate levels of transmission but increased to 13% in low transmission areas (P = .03), an increase explained by the increase in the proportion of cases with cerebral malaria. CONCLUSIONS: Age and level of exposure independently influence the clinical presentation of severe malaria. Our study suggests that an increase in the proportion of cases with more fatal manifestations of severe malaria is likely to occur only after transmission has been reduced to low levels where the overall incidence is likely to be low.

W. O. Rogers, F. Atuguba, A. R. Oduro, A. Hodgson and K. A. Koram. Clinical case definitions and malaria vaccine efficacy. *J Infect Dis.* 2006 Feb 1;193(3):467-73.

Reported efficacies from vaccine trials may depend heavily on the clinical case definition used in the trial. The dependence may be particularly striking for diseases such as malaria, in which no single case definition is appropriate. We used logistic regression modeling of the relationship between parasitemia and fever in data sets from Ghanaian children to determine the fraction of fevers attributable to malaria and to model how the choice of a threshold parasitemia in the clinical case definition affects the measured efficacy of malaria vaccines. Calculated clinical attack rates varied 10-fold as a function of the threshold parasitemia. Strikingly, measured vaccine efficacies in reducing clinical malaria depended heavily on the threshold parasitemia, varying between 20% and 80% as the threshold varied between 1 and 5000 parasites/ microl. We suggest that clinical case definitions of malaria that incorporate a threshold parasitemia are arbitrary and do not yield stable estimates of vaccine trial end points.

C. Rogier, D. Commenges and J. F. Trape. Evidence for an age-dependent pyrogenic threshold of *Plasmodium falciparum* parasitemia in highly endemic populations. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1996 1996/06//;54(6):613-619.

The high prevalence of asymptomatic malaria infections and the nonspecific signs and symptoms of the disease make the individual diagnosis of clinical malaria uncertain in highly endemic areas. Longitudinal data obtained during a four-month period from a daily survey of 200 permanent inhabitants (one month-83 years old) living in a holoendemic area were analyzed in a random-effects logistic regression model to investigate the relationship between the level of *Plasmodium falciparum* parasitemia and risk of fever. It was not possible to build a model that described/summarized correctly this relationship by a continuous function. Findings provide evidence for an age-dependent threshold effect of parasitemia on the occurrence of fever. The level of this threshold varied by 2.45 trophozoites per leukocyte, maximum at one year of age, to 0.5 trophozoites per leukocyte, minimum at 60 years of age. When the parasite density of a person crossed the threshold level corresponding to his or her age, the individual's risk of fever was multiplied by 44 (95% confidence interval = 13.6-144.8). The existence of this threshold effect allows parasite density to be used to distinguish malaria attacks from other causes of fever within an individual and should facilitate the accurate evaluation of the incidence of clinical malaria in highly endemic areas.

C. Rogier, M. C. Henry and A. Spiegel. [Diagnosis of malaria attacks in endemic areas: theoretical aspects and practical implications]. *Med.Trop.(Mars.).* 2001;61(1):27-46.

What criteria can be used to diagnose malaria in health centers located in endemic areas? Can an algorithm be developed for management of fever episodes? What parameters should be used to assess the morbidity of malaria for public health surveys or for studies to determine the efficacy insecticide-impregnated bednets, drug prophylaxis protocols, or anti-malarial vaccinations? Finding a useful definition for malaria attack is a perennial problem that becomes more difficult to resolve as the transmission rate and immunity level of the population increases. This review presents the fundamental aspects of diagnosing malaria. The choice of diagnostic technique requires knowledge of physiopathological, epidemiological, and clinical features. There is no single method. It depends on the circumstances, epidemiological context, available facilities, and goals. Diagnosis for treatment is one thing. Diagnosis for evaluation is another. In addition to discussing these concepts, this article provides references from the recent literature and up-to-date information needed to deal with the problem of diagnosing malaria attacks in endemic areas.

C. Rogier, A. B. Ly, A. Tall, B. Cisse and J. F. Trape. Plasmodium falciparum clinical malaria in Dielmo, a holoendemic area in Senegal: no influence of acquired immunity on initial symptomatology and severity of malaria attacks. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1999/03;60(3):410-420.

Six hundred eighty-nine Plasmodium falciparum malaria attacks were observed during a three-year period among 226 inhabitants of the village of Dielmo, Senegal, an area of high malaria transmission. Malaria attacks were defined as clinical episodes with fever (body temperature  $\geq 38.0$  degrees C) or reporting of fever or headache or vomiting, associated with a parasite:leukocyte ratio above an age-dependent pyrogenic threshold identified in this population. The symptom frequencies were tested against age, gender, and parasite density using a random-effect logistic regression model and the study of distinguishable clinical presentations was carried out by multi-correspondence analysis. There was little difference between the severity of symptoms during the initial course of attacks in young children and adults, and this severity was not correlated with the duration of the pathologic episode. It was not possible to distinguish objectively different malaria attack types according to the severity of clinical manifestations. In contrast, the duration of fever, symptoms, and parasite clearance were significantly longer among the youngest children than among the oldest children and adults. These findings suggest that of the two components of protective immunity, anti-parasite immunity and anti-toxic immunity, only the first would play a major role as age increases. They suggest also that the initial clinical presentation of malaria attacks is not predictive of the level of protective immunity.

C. Rogier, A. Tall, N. Diagne, D. Fontenille, A. Spiegel and J. F. Trape. Plasmodium falciparum clinical malaria: lessons from longitudinal studies in Senegal. *Parassitologia.* 1999/09;41(1-3):255-259.

Development of new antimalaria strategies and particularly vaccines, needs an in-depth understanding of the relationships between transmission, infection, immunity, morbidity and mortality. The intensive and longitudinal collection of entomological, parasitological and clinical data from the Senegalese populations of Dielmo (250-300 inhabitants), exposed to a perennial and intense transmission (about 200 infective bites/person/year) and of Ndiop (300-350 inhabitants) exposed to a seasonal transmission (about 20 infective bites/person/year), allows to respond to many questions about this subject. The acquisition of an antimalaria immunity as one gets older appears to reduce parasite density, complexity of infection, risk of new patent infection after a suppressive treatment but does not reduce the prevalence (as assessed by PCR) of infection which is commonly chronic and asymptomatic. The existence of a pyrogenic threshold effect of parasitaemia allows the individual diagnosis of malaria attacks. *P. falciparum* genotyping suggests that successive malaria attacks are due to distinct recently inoculated parasite populations that multiply initially without restriction, a dominant population is generally responsible of the clinical manifestations and all new populations do not trigger systematically attacks. The initial intensity of clinical manifestations does not differ perceptibly among children and adults, is not related to the duration of the attacks, does not allow the distinction between several types of attacks, is not predictive of their severity, and the clearance of parasites and manifestations is longer among youngest persons. The risk of malaria attacks is lower as one gets older and among carriers of AS haemoglobin, is higher when transmission increases and during pregnancy up to three months after delivery, and vary between children. The risk of malaria attack per infective bite is negatively related to the intensity of transmission. Because of their high sensitivity in malaria case detection, this type of small community-based studies are powerful and useful for the identification of protective immunological mechanisms as well as for testing rapidly and cheaply the clinical efficacy of any intervention such as antimalarial vaccines and drug therapy or prophylaxis. As a lot of vaccine candidates and drug combinations will be screened or tested in the perspective of the 'Roll-Back Malaria' programme, more attention must be given to longitudinal studies of this type.

I. Rooth and A. Bjorkman. Fever episodes in a holoendemic malaria area of Tanzania: parasitological and clinical findings and diagnostic aspects related to malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1992 Sep-Oct;86(5):479-82.

All episodes of acute illness, in children aged 0-9 years, were registered during 3 years in a health clinic in a village of about 500 inhabitants in a malaria holoendemic area on the Tanzanian coast. Of 668 clinical episodes, 395 were diagnosed as malaria. There was no death. Only 5% of the children with malaria episodes came to the clinic after more than 3 d of symptoms. All 11 severe anaemias occurred among these children. Fever was reported in 98%, vomiting in 15%, and diarrhoea in 8% of the malaria episodes. Intermittent fever was reported in 98% of the malaria patients with more than one day of fever, compared to 4% of those with other febrile illnesses. Parasite densities  $\geq 10,000$ /microliters were found in 48% of the malaria episodes. Densities  $\geq 400$ /microliters were found in 96% of the malaria episodes and in only 8% of the other febrile illnesses. The 16 malaria episodes (4%) with densities below that level were all in children under one year of age. The ability of the rural medical aid or the doctor to differentiate malaria episodes from other febrile illnesses without microscopical examination was limited. Although very few malaria episodes were missed, substantial over-diagnosis resulted in specificity values of only 13% and 52% for their respective malaria diagnoses. It is concluded that intermittent fever was strongly associated with malaria, but a high accuracy of malaria diagnosis in febrile children requires microscopical examination.(ABSTRACT TRUNCATED AT 250 WORDS)

A. Rougemont, N. Breslow, E. Brenner, A. L. Moret, O. Dumbo, A. Dolo, G. Soula and L. Perrin. Epidemiological basis for clinical diagnosis of childhood malaria in endemic zone in West Africa. *Lancet.* 1991/11/23;338(8778):1292-1295.

It is difficult to distinguish childhood malaria from other common febrile disorders by parasite count alone, because of the wide variation in tolerance of parasitaemia among individuals. We postulated that the proportion of febrile episodes among young children that can be attributed to parasitaemia varies according to simple clinical criteria. We studied 1114 children aged 2-9 years, who attended a dispensary in the Republic of Niger, with a case-control approach; each of 557 febrile children was matched with a non-febrile control by sex, age, ethnic group, and day of presentation. Febrile episodes were classified according to three clinical criteria: the presence of a likely non-malarial cause; the duration (less than 3 or more than 3 days before presentation); and the intensity (below 39 degrees C or 39 degrees C and above). There was no evidence for an association between febrile episodes and parasite count during the dry, low-transmission, season. During the rainy, high-transmission, season, by contrast, there was a highly significant relation ( $p$  less than 0.0001) between the likelihood of fever and the parasite count; each clinical criterion strengthened the association. There was no association between parasitaemia and low intensity fevers, with an obvious cause, that started 3 or more days before presentation, even in the rainy season; however, the relative risk of a fever that met all three criteria developing in those with vs those without parasitaemia was 27.5. The proportion of febrile cases attributable to detectable parasitaemia (population attributable risk) ranged from 0 to 0.92. Our results suggest that simple clinical criteria may be valuable in the selection of febrile patients for antimalarial treatment. In this geographic area, high fever of short duration and with no other obvious cause that occurs during the rainy season is most likely to be malaria.

A. Rougemont, O. Dumbo, M. Bouvier, G. Soula, L. Perrin, B. Tamoura, S. Yerly, A. Dolo, E. Brenner, B. Kodio and . Hypohaptoglobinaemia as an epidemiological and clinical indicator for malaria. Results of two studies in a hyperendemic region in West Africa. *Lancet*. 1988 /09/24/;2(8613):709-712.

Hypohaptoglobinaemia is a common phenomenon in tropical countries, where it is probably due to malaria-induced haemolysis. Two studies were carried out in a hyperendemic zone of West Africa to test its specificity and usefulness as an epidemiological indicator for measuring malaria endemicity. The first study evaluated the prevalence of hypohaptoglobinaemia before and after courses of antimalarial chemotherapy of varying duration. The second monitored haptoglobin levels in an untreated population during a whole year to compare its seasonal variations with those of several classic indicators of malaria. These studies suggest that in regions where malaria is endemic the prevalence of hypohaptoglobinaemia could be as useful an indicator as the parasitic index but would be much easier to establish and to monitor.

M. Rougemont, M. Van Saanen, R. Sahli, H. P. Hinrikson, J. Bille and K. Jaton. Detection of four *Plasmodium* species in blood from humans by 18S rRNA gene subunit-based and species-specific real-time PCR assays. *J Clin Microbiol*. 2004 Dec;42(12):5636-43.

There have been reports of increasing numbers of cases of malaria among migrants and travelers. Although microscopic examination of blood smears remains the "gold standard" in diagnosis, this method suffers from insufficient sensitivity and requires considerable expertise. To improve diagnosis, a multiplex real-time PCR was developed. One set of generic primers targeting a highly conserved region of the 18S rRNA gene of the genus *Plasmodium* was designed; the primer set was polymorphic enough internally to design four species-specific probes for *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, and *P. ovale*. Real-time PCR with species-specific probes detected one plasmid copy of *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, and *P. ovale* specifically. The same sensitivity was achieved for all species with real-time PCR with the 18S screening probe. Ninety-seven blood samples were investigated. For 66 of them (60 patients), microscopy and real-time PCR results were compared and had a crude agreement of 86% for the detection of plasmodia. Discordant results were reevaluated with clinical, molecular, and sequencing data to resolve them. All nine discordances between 18S screening PCR and microscopy were resolved in favor of the molecular method, as were eight of nine discordances at the species level for the species-specific PCR among the 31 samples positive by both methods. The other 31 blood samples were tested to monitor the antimalaria treatment in seven patients. The number of parasites measured by real-time PCR fell rapidly for six out of seven patients in parallel to parasitemia determined microscopically. This suggests a role of quantitative PCR for the monitoring of patients receiving antimalaria therapy.

J. M. Rubio, A. Benito, P. J. Berzosa, J. Roche, S. Puente, M. Subirats, R. Lopez-Velez, L. Garcia and J. Alvar. Usefulness of seminested multiplex PCR in surveillance of imported malaria in Spain. *J.Clin.Microbiol*. 1999 /10;37(10):3260-3264.

The use of a new PCR-based method for the diagnosis of malaria in the Spanish Malaria Reference Laboratory has promoted an increase in confirmed cases of malaria. From August 1997 to July 1998, a total of 192 whole-blood samples and 71 serum samples from 168 patients were received from the hospitals of the Spanish National Health System. Most of the patients came from west-central African countries (85%). This molecular method showed more sensitivity and specificity than microscopy, detecting 12.4% more positive samples than microscopy and 13% of mixed infections undetectable by Giemsa stain. *Plasmodium falciparum* was the main species detected, with 68% of the total positive malaria cases, followed by *Plasmodium malariae* (29%), *Plasmodium vivax* (14%), and *Plasmodium ovale* (7%), including mixed infections in all cases. This

report consists of the first wide, centralized survey of malaria surveillance in Spain. The reference laboratory conducted the analysis of all imported cases in order to detect trends in acquisition. The use of a seminested multiplex PCR permitted confirmation of the origins of the infections and the Plasmodium species involved and confirmation of the effectiveness of drug treatments. This PCR also allowed the detection of the presence in Spain of primaquine-tolerant *P. vivax* strains from west-central Africa, as well as the detection of a *P. falciparum* infection induced by transfusion.

L. A. Salako, F. O. Ajayi, A. Sowunmi and O. Walker. Malaria in Nigeria: a revisit. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 1990/10;84(5):435-445.

The frequency of asymptomatic malaria parasitaemia was investigated in rural and urban school-children aged six to 12 years in southwestern Nigeria between January 1987 and October 1988. Asymptomatic parasitaemia was detected in the rural school-children all year round with the lowest parasite rate in January and the highest in July, corresponding to the mid-dry and wet seasons respectively. Asymptomatic parasitaemia was also common amongst urban school-children, but the frequency was lower than in the rural children. Parasite density was less than or equal to 1000 microliters<sup>-1</sup> in 42% of parasite-positive asymptomatic children and was greater than 10,000 microliters<sup>-1</sup> in only 20% of them. Mass treatment with chloroquine, to which the parasites were fully sensitive, was followed by the same rate of re-infection in the parasite-positive and parasite-negative groups. Of 7713 patients clinically diagnosed as having malaria 4425 were found to have parasitologically-proven malaria, and of these 4239 had pure Plasmodium falciparum malaria. Of the patients with falciparum malaria only 4.6% were below the age of one year. In 47% the parasite count was less than or equal to 1000 microliters<sup>-1</sup>, and it was over 10,000 microliters<sup>-1</sup> in 37% and over 250,000 microliters<sup>-1</sup> in 16%. There was no significant difference between the asymptomatic children and the acutely ill patients in the percentage with parasite densities less than or equal to 1000 microliters<sup>-1</sup>, but the percentage with parasite densities greater than 10,000 microliters<sup>-1</sup> was significantly greater in the acute malaria patients than in those with asymptomatic parasitaemia.

D. Schellenberg, C. Menendez, E. Kahigwa, J. Aponte, J. Vidal, M. Tanner, H. Mshinda and P. Alonso. Intermittent treatment for malaria and anaemia control at time of routine vaccinations in Tanzanian infants: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2001 /05/12/;357(9267):1471-1477.

**BACKGROUND:** Clinical malaria and severe anaemia are major causes of paediatric hospital admission and death in many malaria-endemic settings. In the absence of an effective and affordable vaccine, control programmes continue to rely on case management while attempting the large-scale deployment of insecticide-treated nets. We did a randomised, placebo-controlled trial to assess the efficacy and safety of intermittent sulphadoxine-pyrimethamine treatment on the rate of malaria and severe anaemia in infants in a rural area of Tanzania. **METHODS:** We randomly assigned 701 children living in Ifakara, southern Tanzania, sulphadoxine-pyrimethamine or placebo at 2, 3, and 9 months of age. All children received iron supplementation between 2 and 6 months of age. The intervention was given alongside routine vaccinations delivered through WHO's Expanded Program on Immunisation (EPI). The primary outcome measures were first or only episode of clinical malaria, and severe anaemia in the period from recruitment to 1 year of age. Morbidity monitoring through a hospital-based passive case-detection system was complemented by cross-sectional surveys at 12 and 18 months of age. Results were expressed in terms of protective efficacy (100 [1-hazard ratio]%) and analysis was by intention to treat. **FINDINGS:** 40 children dropped out (16 died, 11 migrated, 12 parents withdrew consent, and one for other reasons). Intermittent sulphadoxine-pyrimethamine treatment was well tolerated and no drug-attributable adverse events were recorded. During the first year of life, the rate of clinical malaria (events per person-year at risk) was 0.15 in the sulphadoxine-pyrimethamine group versus 0.36 in the placebo group (protective efficacy 59% [95% CI 41-72]), and the rate of severe

anaemia was 0.06 in the sulphadoxine-pyrimethamine group versus 0.11 in the placebo group (50% [8-73]). Serological responses to EPI vaccines were not affected by the intervention. INTERPRETATION: This new approach to malaria control reduced the rate of clinical malaria and severe anaemia by delivering an available and affordable drug through the existing EPI system. Data are urgently needed to assess the potential cost-effectiveness of intermittent treatment in areas with different patterns of malaria endemicity.

K. Silamut, N. H. Phu, C. Whitty, G. D. Turner, K. Louwrier, N. T. Mai, J. A. Simpson, T. T. Hien and N. J. White. A quantitative analysis of the microvascular sequestration of malaria parasites in the human brain. *Am J Pathol.* 1999 Aug;155(2):395-410.

Microvascular sequestration was assessed in the brains of 50 Thai and Vietnamese patients who died from severe malaria (*Plasmodium falciparum*, 49; *P. vivax*, 1). Malaria parasites were sequestered in 46 cases; in 3 intravascular malaria pigment but no parasites were evident; and in the *P. vivax* case there was no sequestration. Cerebrovascular endothelial expression of the putative cytoadherence receptors ICAM-1, VCAM-1, E-selectin, and chondroitin sulfate and also HLA class II was increased. The median (range) ratio of cerebral to peripheral blood parasitemia was 40 (1.8 to 1500). Within the same brain different vessels had discrete but different populations of parasites, indicating that the adhesion characteristics of cerebrovascular endothelium change asynchronously during malaria and also that significant recirculation of parasitized erythrocytes following sequestration is unlikely. The median (range) ratio of schizonts to trophozoites (0.15:1; 0.0 to 11.7) was significantly lower than predicted from the parasite life cycle ( $P < 0.001$ ). Antimalarial treatment arrests development at the trophozoite stages which remain sequestered in the brain. There were significantly more ring form parasites (age < 26 hours) in the cerebral microvasculature (median range: 19%; 0-90%) than expected from free mixing of these cells in the systemic circulation (median range ring parasitemia: 1.8%; 0-36.2%). All developmental stages of *P. falciparum* are sequestered in the brain in severe malaria.

J. A. Simpson, L. Aarons, W. E. Collins, G. M. Jeffery and N. J. White. Population dynamics of untreated *Plasmodium falciparum* malaria within the adult human host during the expansion phase of the infection. *Parasitology.* 2002 /03;124(Pt 3):247-263.

A retrospective analysis was performed of parasite count data recorded from the first 7 days of blood or mosquito transmitted *Plasmodium falciparum* infections given for the treatment of neurosyphilis in the USA before 1963. The objective of this study was to characterize initial growth dynamics before host defences have significant effects on the infecting parasite population. Of the 328 patients' data available for analysis, 83 were excluded because they had received anti-malarial treatment during the first 7 days of the patent infection. Nonlinear mixed effects modelling was performed to estimate the parameters of interest; 'parasite multiplication rate per 48 h' (PMR), and length of the parasite life-cycle (periodicity). The parasitaemia versus time profiles showed great variability between patients. The mean population estimate of 'PMR' was approximately 8, and was highly dependent on the *P. falciparum* 'strain'. PMR also varied significantly between patients with a 90% prediction interval varying from 5.5 to 12.3-fold. Both intrinsic parasite multiplication rate (an intrinsic virulence determinant), and host susceptibility and defence contribute to expansion of the parasite biomass and thus disease severity in *falciparum* malaria.

T. Smith, J. D. Charlwood, J. Kihonda, S. Mwankusye, P. Billingsley, J. Meuwissen, E. Lyimo, W. Takken, T. Teuscher and M. Tanner. Absence of seasonal variation in malaria parasitaemia in an area of intense seasonal transmission. *Acta Trop.* 1993 Jun;54(1):55-72.

Parasitological surveys carried out in two villages of the Kilombero district of Tanzania indicated a very high prevalence of *Plasmodium falciparum* parasitaemia throughout the year (all ages mean prevalence = 69.2%) and a low, unstable prevalence of *P. malariae* (all ages mean prevalence = 4.5%). Fevers (temperature  $\geq 37.5$  degrees C) in both children and adults showed irregular changes in prevalence over time, but there was no seasonal pattern. Neither was there seasonal variation in either *P. falciparum* parasite prevalence or parasite densities. This was despite marked seasonality in vectors caught in CDC light-traps and in estimated sporozoite inoculations determined by ELISA. The estimated mean annual inoculation rate was extremely high, over 300 infectious bites per person per year, the main vectors being members of the *A. gambiae* complex and *Anopheles funestus*. There was considerable variation between houses but even in houses with relatively low mosquito numbers the inoculation rate was sufficient to maintain a maximal *P. falciparum* prevalence. Heterogeneities in exposure cannot explain why the parasite prevalence is not always 100%. In areas of such high transmission, parasitaemias are likely to be determined mainly by the interaction of schizogony and anti-blood stage immunity, since parasites arising from new inoculations generally comprise only a small proportion of the total in the circulation. In any one individual, this will lead to periodic fluctuations in levels of parasitaemia. These are unlikely to show a close relationship to either seasonal variation in inoculations or to differences between households in the local inoculation rate.

T. Smith, J. D. Charlwood, A. Y. Kitua, H. Masanja, S. Mwankusye, P. L. Alonso and M. Tanner. Relationships of malaria morbidity with exposure to *Plasmodium falciparum* in young children in a highly endemic area. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1998 /08;59(2):252-257.

To study incidence of clinical *Plasmodium falciparum* malaria in relation to exposure to parasites, attendance of children less than eighteen months old at a village dispensary in a highly endemic area of Tanzania was recorded. Entomologic inoculation rates (EIRs), estimated as a function of time period and place of residence, exceeded one sporozoite positive bite per adult per night in some village neighborhoods during the wet season. Incidence of clinical *P. falciparum* malaria, defined either as fever with parasitemia or as fever with hyperparasitemia, increased with the EIR over the whole range of exposures. Each 10-fold increase in the EIR corresponded to a 1.6-fold increase in incidence of fever plus parasitemia (95% confidence interval = 1.4-2.0). Therefore reduction of human-vector contacts will probably reduce morbidity incidence even at very high exposures. Incidence showed little relationship to estimated cumulative numbers of inoculations since birth, but decreased steeply with estimated cumulative time infected with trophozoites. This suggests that clinical immunity depends mainly on the extent of exposure to blood-stage antigens, not on the diversity of inocula seen, and thus temporary reductions in human-vector contacts are unlikely to result in subsequent increases in morbidity.

T. Smith, B. Genton, K. Baea, N. Gibson, J. Taime, A. Narara, F. al Yaman, H. P. Beck, J. Hii and M. Alpers. Relationships between Plasmodium falciparum infection and morbidity in a highly endemic area. *Parasitology*. 1994 /12;109 ( Pt 5):539-549.

A total of 736 outpatients diagnosed as having malaria using clinical criteria at a health centre in a highly endemic area of Papua New Guinea were investigated parasitologically. Plasmodium falciparum-attributable fractions were determined using a logistic regression model to compare parasite densities in cases with those of healthy individuals in community surveys. Thirty-seven percent of presumptive cases were found to have raised P. falciparum parasitaemia. This corresponds to an average reporting rate for the population of 0.53 attributable episodes per annum. Whilst the maximum prevalence of parasitaemia in the community was in children aged 5-9 years, the maximum age-specific incidence of attributable cases at the outpatient clinic was 2 cases per annum in the 2- to 4-year-old age group. The procedure for estimating attributable fractions makes it possible to compare morbidity rates between age groups, and to examine how the relationship between morbidity risk and parasite density changes with age, without diagnosing individual episodes. The average tolerance of parasites in an age group was measured by considering the level of parasitaemia associated with a given risk of malaria-attributable morbidity. In contrast to anti-parasite immunity, tolerance of parasites declines with age since at parasite isodensity the probability of being symptomatic increases with age.

T. Smith, N. Hurt, T. Teuscher and M. Tanner. Is fever a good sign for clinical malaria in surveys of endemic communities? *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1995 /04;52(4):306-310.

Although fever is the characteristic sign of clinical malaria, many Plasmodium falciparum malaria cases in endemic areas do not present with measurable temperature elevations. In a field study in Tanzania, malaria morbidity was defined to be any current self- or parentally reported illness associated with malaria parasite densities higher than those in healthy individuals. Without diagnosis of individual episodes, prevalences of malaria-attributable morbidity of 9.8% in infants, 1.3% in children 1-4 years of age, and 0.6% in those 5-9 years of age were estimated. No illness was considered to be due to malaria in older individuals. In infants, 66.5% of malaria-attributable morbidity episodes corresponded to axillary temperatures < 37.5 degrees C. In older children, most of the episodes due to malaria corresponded to increased temperatures. This age dependence should be considered when designing diagnostic procedures and outcome measures for epidemiologic studies of malaria.

T. Smith, J. A. Schellenberg and R. Hayes. Attributable fraction estimates and case definitions for malaria in endemic areas. *Stat Med.* 1994 Nov 30;13(22):2345-58.

Asymptomatic carriage of malaria parasites occurs frequently in endemic areas and the detection of parasites in a blood film from a febrile individual does not necessarily indicate clinical malaria. In areas of low and moderate endemicity the parasite prevalence in fever cases can be compared with that in community controls to estimate the fraction of cases which are attributable to malaria. In areas of very high transmission such estimates of the attributable fraction may be imprecise because very few individuals are without parasites. Furthermore, non-malarial fevers appear to suppress low levels of parasitaemia resulting in biased estimates of the attributable fraction. Alternative estimation techniques were therefore explored using data collected during 1989-1991 from a highly endemic area of Tanzania, where over 80 per cent of young children are parasitaemic. Logistic regression methods which model fever risk as a continuous function of parasite density give more precise estimates than simple analyses of parasite prevalence and overcome problems of bias caused by the effects of non-malarial fevers. Such models can be used to estimate the probability that any individual episode is malaria-attributable and can be extended to allow for covariates. A case definition for symptomatic malaria that is used widely in endemic

areas requires fever together with a parasite density above a specific cutoff. The choice of a cutoff value can be assisted by using the probabilities derived from the logistic model to estimate the sensitivity and specificity of the case definition.

T. Smith, J. A. Schellenberg and R. Hayes. Attributable fraction estimates and case definitions for malaria in endemic areas. *Stat.Med.* 1994 /11/30/;13(22):2345-2358.

Asymptomatic carriage of malaria parasites occurs frequently in endemic areas and the detection of parasites in a blood film from a febrile individual does not necessarily indicate clinical malaria. In areas of low and moderate endemicity the parasite prevalence in fever cases can be compared with that in community controls to estimate the fraction of cases which are attributable to malaria. In areas of very high transmission such estimates of the attributable fraction may be imprecise because very few individuals are without parasites. Furthermore, non-malarial fevers appear to suppress low levels of parasitaemia resulting in biased estimates of the attributable fraction. Alternative estimation techniques were therefore explored using data collected during 1989-1991 from a highly endemic area of Tanzania, where over 80 per cent of young children are parasitaemic. Logistic regression methods which model fever risk as a continuous function of parasite density give more precise estimates than simple analyses of parasite prevalence and overcome problems of bias caused by the effects of non-malarial fevers. Such models can be used to estimate the probability that any individual episode is malaria-attributable and can be extended to allow for covariates. A case definition for symptomatic malaria that is used widely in endemic areas requires fever together with a parasite density above a specific cutoff. The choice of a cutoff value can be assisted by using the probabilities derived from the logistic model to estimate the sensitivity and specificity of the case definition.

R. W. Snow, I. Bastos de Azevedo, B. S. Lowe, E. W. Kabiru, C. G. Nevill, S. Mwankusye, G. Kassiga, K. Marsh and T. Teuscher. Severe childhood malaria in two areas of markedly different falciparum transmission in east Africa. *Acta Trop.* 1994 Sep;57(4):289-300.

Malaria remains a major public health challenge in sub-Saharan Africa, yet our knowledge of the epidemiology of malaria in terms of patterns of mortality and morbidity is limited. We have examined the presentation of severe, potentially life-threatening malaria to district hospitals in two very different transmission settings: Kilifi, Kenya with low seasonal transmission and Ifakara, Tanzania with high seasonal transmission. The minimum annual rates of severe disease in children below five years in both populations were similar (46 per 1000 children in Kilifi and 51 per 1000 children in Ifakara). However, there were important differences in the age and clinical patterns of severe disease; twice as many patients were under one year of age in Ifakara compared with Kilifi and there was a four fold higher rate of cerebral malaria and three fold lower rate of malaria anaemia among malaria patients at Kilifi compared with Ifakara. Reducing malaria transmission in Ifakara by 95%, for example with insecticide-treated bed nets, would result in a transmission setting comparable to that of Kilifi and although this reduction may yield early successes in reducing severe malaria morbidity and mortality in young, immunologically naive children, place these same children at increased risk at older ages of developing severe and potentially different manifestations of malaria infection hence producing no net cohort gain in survivorship from potentially fatal malaria.

R. W. Snow, J. A. Omumbo, B. Lowe, C. S. Molyneux, J. O. Obiero, A. Palmer, M. W. Weber, M. Pinder, B. Nahlen, C. Obonyo, C. Newbold, S. Gupta and K. Marsh. Relation

between severe malaria morbidity in children and level of *Plasmodium falciparum* transmission in Africa. *Lancet*. 1997 /06/07/;349(9066):1650-1654.

**BACKGROUND:** Malaria remains a major cause of mortality and morbidity in Africa. Many approaches to malaria control involve reducing the chances of infection but little is known of the relations between parasite exposure and the development of effective clinical immunity so the long-term effect of such approaches to control on the pattern and frequency of malaria cannot be predicted. **METHODS:** We have prospectively recorded paediatric admissions with severe malaria over three to five years from five discrete communities in The Gambia and Kenya. Demographic analysis of the communities exposed to disease risk allowed the estimation of age-specific rates for severe malaria. Within each community the exposure to *Plasmodium falciparum* infection was determined through repeated parasitological and serological surveys among children and infants. We used acute respiratory-tract infections (ARI) as a comparison. **FINDINGS:** 3556 malaria admissions were recorded for the five sites. Marked differences were observed in age, clinical spectrum and rates of severe malaria between the five sites. Paradoxically, the risks of severe disease in childhood were lowest among populations with the highest transmission intensities, and the highest disease risks were observed among populations exposed to low-to-moderate intensities of transmission. For severe malaria, for example, admission rates (per 1000 per year) for children up to their 10th birthday were estimated as 3.9, 25.8, 25.9, 16.7, and 18.0 in the five communities; the forces of infection estimated for those communities (new infections per infant per month) were 0.001, 0.034, 0.050, 0.093, and 0.176, respectively. Similar trends were noted for cerebral malaria and for severe malaria anaemia but not for ARI. Mean age of disease decreased with increasing transmission intensity. **INTERPRETATION:** We propose that a critical determinant of life-time disease risk is the ability to develop clinical immunity early in life during a period when other protective mechanisms may operate. In highly endemic areas measures which reduce parasite transmission, and thus immunity, may lead to a change in both the clinical spectrum of severe disease and the overall burden of severe malaria morbidity.

R. W. Steketee, B. L. Nahlen, M. E. Parise and C. Menendez. The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 2001 /01;64(1-2 Suppl):28-35.

Pregnant women in malarious areas may experience a variety of adverse consequences from malaria infection including maternal anemia, placental accumulation of parasites, low birth weight (LBW) from prematurity and intrauterine growth retardation (IUGR), fetal parasite exposure and congenital infection, and infant mortality (IM) linked to preterm-LBW and IUGR-LBW. We reviewed studies between 1985 and 2000 and summarized the malaria population attributable risk (PAR) that accounts for both the prevalence of the risk factors in the population and the magnitude of the associated risk for anemia, LBW, and IM. Consequences from anemia and human immunodeficiency virus infection in these studies were also considered. Population attributable risks were substantial: malaria was associated with anemia (PAR range = 3-15%), LBW (8-14%), preterm-LBW (8-36%), IUGR-LBW (13-70%), and IM (3-8%). Human immunodeficiency virus was associated with anemia (PAR range = 12-14%), LBW (11-38%), and direct transmission in 20-40% of newborns, with direct mortality consequences. Maternal anemia was associated with LBW (PAR range = 7-18%), and fetal anemia was associated with increased IM (PAR not available). We estimate that each year 75,000 to 200,000 infant deaths are associated with malaria infection in pregnancy. The failure to apply known effective antimalarial interventions through antenatal programs continues to contribute substantially to infant deaths globally.

M. Sund-Levander, C. Forsberg and L. K. Wahren. Normal oral, rectal, tympanic and axillary body temperature in adult men and women: a systematic literature review. *Scand J Caring Sci*. 2002 Jun;16(2):122-8.

Normal oral, rectal, tympanic and axillary body temperature in adult men and women: a systematic literature review The purpose of this study was to investigate normal body temperature in adult men and women. A systematic review of data was performed. Searches were carried out in MEDLINE, CINAHL, and manually from identified articles reference lists. Studies from 1935 to 1999 were included. Articles were classified as (1) strong, (2) fairly strong and (3) weak evidence. When summarizing studies with strong or fairly strong evidence the range for oral temperature was 33.2-38.2 degrees C, rectal: 34.4-37.8 degrees C, tympanic: 35.4- 37.8 degrees C and axillary: 35.5-37.0 degrees C. The range in oral temperature for men and women, respectively, was 35.7-37.7 and 33.2-38.1 degrees C, in rectal 36.7-37.5 and 36.8-37.1 degrees C, and in tympanic 35.5-37.5 and 35.7-37.5 degrees C. The ranges of normal body temperature need to be adjusted, especially for the lower values. When assessing body temperature it is important to take place of measurement and gender into consideration. Studies with random samples are needed to confirm the range of normal body temperature with respect to gender and age.

M. Sund-Levander, E. Grodzinsky, D. Loyd and L. K. Wahren. Errors in body temperature assessment related to individual variation, measuring technique and equipment. *Int J Nurs Pract.* 2004 Oct;10(5):216-23.

Errors in body temperature measurement might seriously influence the evaluation of an individual's health condition. We studied individual variation, measurement technique and the equipment used when assessing body temperature. In the first part of the study, three volunteers performed repeated measurements for five mornings. In the second part, the morning rectal, oral, ear and axillary temperatures were measured once in 84 men and women (19-59 years). The repeated measurements showed a daily temperature difference of 0.1-0.4 degrees C in rectal and oral temperatures, 0.2 degrees C-1.7 degrees C in the ear and 0.1-0.9 degrees C in the axillary temperatures. In the sample of 84 subjects, men and postmenopausal women had a lower mean body temperature compared to premenopausal women. The mean deviation between rectal temperature, and oral, ear and axillary temperatures, respectively, was > 0.5 degrees C, with a large individual variation. In conclusion, in order to improve the evaluation of body temperature, the assessment should be based on the individual variation, the same site of measurement and no adjustment of oral, ear or axillary temperatures to the rectal site.

Hanscheid T. Current strategies to avoid misdiagnosis of malaria. *Clin Microbiol Infect.* 2003;Jun;9(6):497-504.

Malaria remains the most important parasitic disease, and tens of thousands of cases are imported into non-endemic countries annually. However, any single institution may see only a very few cases-this is probably the reason why laboratory and clinical misdiagnosis may not be uncommon. In the laboratory, unfamiliarity with microscopic diagnosis may be the main reason, considering the large number of laboratory staff who provide on-call services, often without expert help at hand, as well as the difficulty in detecting cases with low-level parasitemia. Staff should therefore be provided with continuing microscopic training to maintain proficiency. The complementary use of immunochromatographic rapid detection tests (RDTs) may be useful, especially during on-call hours, although, in order to ensure correct interpretation, their inherent limitations have to be well known. Diagnosis based on the polymerase chain reaction is still unsuitable for routine use, due to its long turnaround time, its cost, and its unavailability outside regular hours, although it may be helpful in selected cases. Once the alert clinician has considered the possibility of malaria, and suspicion continues to be high, malaria can be excluded by repeat smears or RDTs. However, the absence of clinical suspicion may not be infrequent, and may have more serious consequences. Depending on the local number of malaria cases seen, laboratory staff should have a low threshold for the decision to perform unsolicited malaria diagnostic tests on suspicious samples, especially if other laboratory tests are abnormal (e.g. thrombocytopenia, presence of atypical lymphocytes, or

raised lactate dehydrogenase). The detection of intraleukocytic hemozoin during automated full blood counts is a promising new way to avoid misdiagnosis of clinically unsuspected.

A. O. Talisuna and D. N. Meya. Diagnosis and treatment of malaria. *Bmj*. 2007 Feb 24;334(7590):375-6.

Malaria is a major public health problem and is endemic in about 107 countries. The symptoms of uncomplicated malaria are non-specific and similar to many other disease syndromes, including minor viral illnesses. People living in areas where malaria is endemic are often familiar with these symptoms and frequently diagnose themselves, so that over-diagnosis is widespread. Prompt and accurate diagnosis of malaria is important for effective case management and if implemented well should reduce mortality from this disease.<sup>2</sup> High sensitivity of diagnosis is crucial, and high specificity could reduce unnecessary treatment and improve the diagnosis of other febrile illness.<sup>3</sup> In this week's BMJ, a randomised controlled trial by Reyburn et al assesses the effect of rapid diagnostic tests compared with microscopy for guiding treatment of acute febrile illness in outpatients in Tanzania.

J. F. Trape, P. Peelman and B. Morault-Peelman. Criteria for diagnosing clinical malaria among a semi-immune population exposed to intense and perennial transmission. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg*. 1985;79(4):435-442.

In highly malaria-endemic areas, thick smears are usually positive regardless of the clinical context. Therefore the simple positivity or negativity of the thick smear is not an adequate criterion for distinguishing malaria from other causes of fever. In order to define simple parasitological and clinical criteria for diagnosing clinical malaria with a small risk of error, a study was undertaken in a rural area in the Congo where malaria transmission is intense and perennial. Results of the systematic determination of the parasite density of 1562 samples from persons of all ages considered representative of the population of the studied area are compared to those from 327 febrile patients, 204 patients detected during medical consultations held in the villages and 123 febrile schoolchildren detected during surveys for fever. The analysis of the clinical data and the parasitological results clearly demonstrates the importance of the parasite density determination for the diagnosis of clinical malaria. Clinical *Plasmodium falciparum* malaria is unlikely to occur in children under 15 years if the parasite/leucocyte ratio is less than 1.5. On the contrary this diagnosis is very probable if the parasite/leucocyte ratio is higher than 2. Clinical criteria were too non-specific to serve as useful diagnostic criteria.

M. Vaahtera, T. Kulmala, K. Maleta, T. Cullinan, M. L. Salin and P. Ashorn. Epidemiology and predictors of infant morbidity in rural Malawi. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2000 Oct;14(4):363-71.

In rural Malawi, 703 newborns were visited monthly for 1 year to describe the epidemiology and health-seeking behaviour during acute episodes of diarrhoea, respiratory infections (ARI) and malaria. On average, the infants suffered from 1.3 annual episodes (11.0 illness days) of diarrhoea, 1.1 episodes (9.4 days) of ARI and 0.7 episodes (4.8 days) of malaria. Multivariate analysis with polychotomous logistic regression indicated that the amount of morbidity was associated with the child's area of residence, weight in early life, number of siblings, father's marital status and the source of drinking water. Diarrhoea and malaria were most common at 6-12 months of age and during the rainy months whereas respiratory infections peaked at 1-3 months of age

and in the cold season. Ten per cent of diarrhoea, 9% of ARI and 7% of malaria episodes lasted for more than 14 days. Fifty-eight infants died, giving case fatality rates of 1% for diarrhoea, 2% for ARI and 4% for malaria. One-third (37%) of the illness episodes were managed at home without external advice. A traditional healer was consulted in 16% of episodes and a medical professional in 55% of episodes. If consulted, traditional healers were seen earlier than medical professionals (median duration after the onset of symptoms 0.7 vs. 1.8 days,  $P < 0.001$ ). Traditional healers were significantly more commonly used by those families whose infants died than by those whose infants did not die (odds ratio 1.8, 95% CI 1.1, 3.0). Our results emphasise the influence of seasonality, care and living conditions on the morbidity of infants in rural Malawi. Case fatality for diarrhoea, ARI and malaria was high and associated with health-seeking behaviour among the guardians. Future interventions must aim at early and appropriate management of common childhood illnesses during infancy.

P. Vounatsou, T. Smith, A. Y. Kitua, P. L. Alonso and M. Tanner. Apparent tolerance of *Plasmodium falciparum* in infants in a highly endemic area. *Parasitology*. 2000/01;120 ( Pt 1):1-9.

The incidence of fever among infants in the village of Idete in the Morogoro region of Tanzania was analyzed in relation to densities of *Plasmodium falciparum* parasites in the peripheral blood. Parasite densities in both fever cases and in asymptomatic infants, were compared and a Bayesian non-parametric mixture decomposition algorithm was used to estimate the proportion of fevers attributable to malaria and hence the incidence of clinical malaria. Age group-specific densities of peripheral parasitaemia showed little seasonality, but the clinical malaria incidence showed a clear peak in the wet season in children aged less than 9 months. Estimates of the parasitaemia-specific incidence of clinical malaria were used to quantify apparent tolerance of parasites, and indicated that clinical episodes occurred on average at lower parasite densities during the wet season than in the dry season. These patterns could reflect differences in levels of anti-toxic immunity, but the nature of the seasonal differences supports the alternative explanation that the variation in apparent tolerance may be an effect of changes in the ratio of peripheral parasite densities to the sequestered mass.

G. Wagner, K. Koram, D. McGuinness, S. Bennett, F. Nkrumah and E. Riley. High incidence of asymptomatic malaria infections in a birth cohort of children less than one year of age in Ghana, detected by multicopy gene polymerase chain reaction. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 1998/07;59(1):115-123.

The incidence of *Plasmodium falciparum* infection has been followed in a birth cohort of 71 infants in southern Ghana, an area of perennial malaria transmission. Parasite DNA detection established the presence of a high rate of infection in newborns (13.6%), a low level of infection from two to 26 weeks (1.5-9.7%) and a steadily increasing parasite rate from 26 weeks of age. The median age to first infection was 42 weeks. Five cases of fever (temperature  $\geq 37.5$  degrees C) and parasite density greater than 1,000 parasites/microl of blood, all in children more than 18 weeks of age, were considered possible cases of clinical malaria. The risk of infection was almost three times higher in the wet season than in the dry season and increased significantly from the age of 18 weeks. The level of malaria-specific IgG at birth was positively correlated with risk of infection in children 6-12 months of age, indicating that maternally derived anti-malarial IgG is correlated with exposure to malaria infection. There was no association between malaria-specific IgG at birth and risk of infection in children 0-6 months of age. However, infants do appear to possess mechanisms to limit parasite growth and a role for maternal antibody cannot be ruled out.

M. W. Weber, E. K. Mulholland, S. Jaffar, H. Troedsson, S. Gove and B. M. Greenwood. Evaluation of an algorithm for the integrated management of childhood illness in an area with seasonal malaria in the Gambia. *Bull. World Health Organ*. 1997;75 Suppl 1:25-32.

Most of the 12.4 million deaths occurring every year among under-5-year-olds in developing countries could be prevented by the application of simple treatment strategies. So that health professionals who have had limited training can identify and classify the common childhood diseases, WHO developed a treatment algorithm (the Integrated Management of Childhood Illness (IMCI) or Sick Child algorithm), a prototype of which was tested in 440 Gambian children aged between 2 months and 5 years. The children were first assessed by a trained field worker using the algorithm, and then by a paediatrician whose clinical diagnosis was supported by laboratory investigations and, when indicated, a chest X-ray. Compared with the paediatrician's diagnosis, the sensitivity and specificity of the draft IMCI algorithm were, respectively, 81% and 89% for the detection of pneumonia, 67% and 96% for dehydration, 87% and 8% for malaria parasitaemia (any level), 100% and 9% for malaria parasitaemia (above 5000 parasites/microliter), 100% and 99% for measles, 31% and 97% for otitis media, and 89% and 90% for malnutrition. Among the children admitted by the physician, 45% had been recommended for admission by the algorithm. Intermittent fever, chills and sweats did not help in discriminating between malaria and non-malarious fevers; shivering or shaking of the body had a sensitivity of only 35%. While the algorithm dealt with the majority of presenting complaints, the most common problems not addressed by the chart were skin rashes (21%), mouth problems (8%), and eye problems (6%). The draft IMCI algorithm proved to be effective in the diagnosis of pneumonia, gastroenteritis, measles and malnutrition, but not malaria where its use without microscopy would result in considerable over-treatment, especially in a low transmission area or during a low transmission season in countries with seasonal malaria. The current algorithm would benefit from expansion to cover management of localized infections as well as skin, mouth and eye problems.

N. J. White, D. Chapman and G. Watt. The effects of multiplication and synchronicity on the vascular distribution of parasites in falciparum malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1992/11;86(6):590-597.

The sequestration of erythrocytes containing mature forms of *Plasmodium falciparum* in the microvasculature of vital organs may cause large discrepancies between the peripheral blood parasite count and the total body parasite burden in falciparum malaria. Despite this, parasitaemia is widely used as an indicator of prognosis and response to treatment. A simple mathematical model describing the changes in circulating and sequestered parasite numbers during acute falciparum malaria is presented. The model uses two parameters only; the standard deviation (SD) of parasite age since merogony (schizogony) as a measure of synchronicity, and a multiplication factor each 48 h asexual life cycle. The model predicts that during the rising phase of the infection the ratio of circulating to sequestered parasites is dependent largely on the synchronicity of infection rather than multiplication rate, and that in synchronous infections parasitaemias will show considerable fluctuation when the mean stage of parasite development is in the second half of the asexual life cycle. The model fitted well to serial parasite counts from 4 patients with acute uncomplicated falciparum malaria whose infections failed to respond to ciprofloxacin. All four infections were synchronous (SD  $\leq$  4 h), and showed large fluctuations in parasitaemia over short periods related to synchronous sequestration and subsequent reinvasion following merogony. The parasite multiplication rate was determined mainly by the efficiency of merogony or merozoite invasion rather than clearance of circulating parasitized erythrocytes. This suggests that the spleen is relatively inactive during the rising phase of the

infection. Quinine treatment did not prevent sequestration but did stop subsequent multiplication.(ABSTRACT TRUNCATED AT 250 WORDS)

C. Wongsrichanalai. Rapid diagnostic techniques for malaria control. *Trends Parasitol.* 2001 /07;17(7):307-309.

The past decade was a milestone in the development of malaria diagnostic technology. Today, a variety of simplified and rapid malaria diagnostic devices, collectively referred to as 'dipsticks', is available. This paper discusses the potential roles of these devices, and obstacles to their use, in supporting malaria control strategies.

C. Wongsrichanalai, M. J. Barcus, S. Muth, A. Sutamihardja and W. H. Wernsdorfer. A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Dec;77(6 Suppl):119-27.

The absolute necessity for rational therapy in the face of rampant drug resistance places increasing importance on the accuracy of malaria diagnosis. Giemsa microscopy and rapid diagnostic tests (RDTs) represent the two diagnostics most likely to have the largest impact on malaria control today. These two methods, each with characteristic strengths and limitations, together represent the best hope for accurate diagnosis as a key component of successful malaria control. This review addresses the quality issues with current malaria diagnostics and presents data from recent rapid diagnostic test trials. Reduction of malaria morbidity and drug resistance intensity plus the associated economic loss of these two factors require urgent scaling up of the quality of parasite-based diagnostic methods. An investment in anti-malarial drug development or malaria vaccine development should be accompanied by a parallel commitment to improve diagnostic tools and their availability to people living in malarious areas.

Woronzoff-Dashkoff. The wright-giemsa stain. Secrets revealed. . *Clin Lab Med* 2002;22(1):15-23.

The colorful story of the development of the Wright-Giemsa stain is retold. Dramas are replayed, secrets are exposed, and laurels are properly returned to scientists long forgotten. The delicately balanced chemical composition of the stain, once enigmatic, is defined. Finally, an attempt is made to unshroud some of the mystery surrounding the staining method; tried-and-true procedures and useful snippets of laboratory lore are provided. Scientific explanations and reliable methods aside, however, the stain continues to possess a certain mystique, seemingly consisting of equal parts technical expertise, art, and magic.

