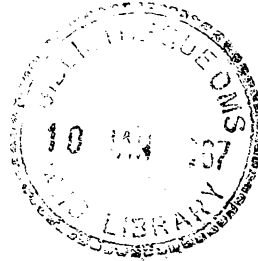


WHO/Mal/66.587 ✓

FRANCAIS SEULEMENT
(with summary in English)



VALEUR DE LA REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE DANS LE DEPISTAGE
DES PARASITEMIES ASYMPTOMATIQUES A PLASMODIUM MALARIAE¹

par

Prof. G. Lupasco, Dr Aspasia Bossie-Agavriloaei, Dr C. Bona,
Liliana Ioanid, Dr M. Smolinschi
Institut "Dr I. Cantacuzino", Bucarest, Roumanie

En raison de l'avancement et de l'expansion du programme mondial d'éradication du paludisme, une série de nouveaux problèmes d'épidémiologie s'imposent à l'attention des paludologues et des administrateurs de santé publique.

La solution de ces problèmes préoccupe non seulement les services nationaux de lutte antipaludique, mais aussi l'Organisation mondiale de la Santé, en tant qu'organisme supérieur de coordination pour la réalisation globale de l'éradication du paludisme (OMS, 1965).

Parmi ces problèmes, les parasitémies asymptomatiques, en tant que sources possibles d'infection capables de retarder l'achèvement de l'éradication du paludisme, représentent toujours une des questions les plus ardues et d'actualité. Si dans le cas d'infections à Plasmodium falciparum ou P. vivax la durée des parasitémies asymptomatiques est limitée (en l'absence de réinfections répétées) par la brièveté même de la vie du parasite, dans les infections à P. malariae les latences parasitaires de

¹ Cette recherche a bénéficié d'une aide financière de l'Organisation mondiale de la Santé.

longue durée sont bien connues et les infections secondaires ayant comme point de départ de pareils cas sont assez fréquentes, en particulier les infections provoquées par des transfusions de sang.

Une étude antérieure (Lupasco et coll., 1963) avait montré qu'en Roumanie, dans les conditions d'endémicité qui existaient avant la mise en oeuvre du programme d'éradication, les infections à P. malariae ne dépassaient pas le taux de 2,5 % du chiffre annuel des cas de paludisme enregistrés. La mise en oeuvre du programme d'éradication du paludisme et son développement progressif ont révélé le fait que, parallèlement à la réduction des chiffres généraux de morbidité palustre annuelle, la proportion des infections à P. malariae était en hausse appréciable allant jusqu'à 78,7 % des cas confirmés en 1961 et atteignant 99,4 % en 1962 et 100 % en 1963, 1964 et 1965 (chiffres rapportés aux cas indigènes).

La plupart de ces infections étaient provoquées par des transfusions de sang. Pour être précis, sur un total de 365 cas de paludisme hématologiquement confirmés et enregistrés pour la période 1959-1965, 130 cas, soit 35,4 % étaient dus à P. malariae, dont 112 cas, soit 86,1 % à la suite de transfusions de sang.

Cette incidence élevée des infections à P. malariae consécutives aux transfusions plaidait, sans équivoque aucune, en faveur de l'existence parmi les donneurs de sang de parasitémies asymptomatiques qui, étant "subpatentes" étaient par conséquent non décelables dans des conditions normales de l'examen microscopique.

Dans le but de prévenir les infections post-transfusionnelles, diverses mesures ont été préconisées, parmi lesquelles le prolongement du temps de conservation du sang au réfrigérateur avant son utilisation demeurerait la plus réalisable au point de vue pratique. L'efficacité de cette mesure est toutefois diminuée soit à cause du décalage qui se crée parfois entre la quantité de sang conservé pendant cinq jours au moins et celle dont on a besoin à un moment donné, soit par le fait que, dans une certaine proportion de cas, la viabilité des parasites dans le sang conservé peut se maintenir parfois même durant 12 jours (Morcos, 1961; Lupasco et coll. 1963).

Une mesure plus efficace paraissait être le traitement prophylactique - en dose unique - du receveur quelques heures avant la transfusion. Toutefois, dans la pratique, cette mesure a une valeur limitée, en raison du caractère de sévérité et d'extrême urgence de la plupart des cas nécessitant l'hémothérapie.

La possibilité de déceler les parasitémiques asymptomatiques par la recherche des anticorps dans leur sérum sanguin au moyen du test d'immunofluorescence et l'inactivation consécutive des donneurs potentiels ainsi dépistés par l'administration du traitement standard de cure radicale ont permis d'envisager une solution du problème du paludisme post-transfusionnel; la conséquence en serait le tarissement, avec le temps, de ces sources potentielles d'infection.

Les résultats des investigations entreprises à ce sujet durant les années 1965 et 1966 sont donnés ci-dessous.

Matériel et méthodes

On a suivi cliniquement, hématologiquement et par le test d'immunofluorescence, 78 donneurs de sang impliqués à l'origine dans 14 cas manifestes d'infections à P. malariae. Deux des donneurs avec le test d'immunofluorescence positif ont été confirmés comme parasitémiques aussi par l'épreuve de l'isodiagnostic.

Le test d'immunofluorescence a été effectué en utilisant la méthode indirecte, l'antigène provenant de frottis de sang prélevés sur des impaludés thérapeutiques avec P. malariae (souche VS). Après prélèvement, les frottis séchés à l'air étaient fixés dans de l'acétone froide (Merck) et ensuite conservés à -20°C dans un dessiccateur contenant du chlorure de calcium.

Le sérum anti-gammaglobuline humain utilisé pour le test d'immunofluorescence a été préparé sur lapin (selon la méthode décrite par Coombs). Ce sérum, dont le titre était de 1:50 000, a été conjugué avec de l'isothiocyanate de fluorescéine (Voller 1962, 1964) et adsorbé sur poudre de foie ou de rate d'homme ou de singe. Comme préservateur, on a utilisé de l'acide de sodium (0,3 %); les

sérums étaient conservés à +4°C. Le conjugué était ensuite dilué jusqu'à obtention du maximum de fluorescence des parasites avec un minimum de fluorescence des restes d'hématie. Une partie des préparations présentait une fluorescence non spécifique des leucocytes, moins intenses toutefois que la fluorescence spécifique des parasites dont la présence a également été vérifiée par contraste de phase; cette fluorescence non spécifique des leucocytes n'influe pas sur l'interprétation des frottis colorés par de l'isothiocyanate.

Les frottis de sang représentant l'antigène étaient déhémoglobinisés dans de l'HCl 0,1 N pendant 15 minutes, lavés à trois reprises dans une solution tamponnée de phosphate salin (PBS) 0,01 M, ayant un pH de 7, pendant 15 minutes, puis recouverts du sérum à tester (à différentes dilutions) et maintenus pendant 30 minutes dans une chambre humide pour prévenir l'évaporation. Au bout de ce laps de temps, les frottis étaient lavés à nouveau à trois reprises, toujours dans une solution tamponnée de phosphate salin. On appliquait ensuite sur chaque lame quelques gouttes de sérum marqué anti-gamma-globuline d'homme en laissant réagir pendant 30 minutes; puis, après lavage des lames dans une solution tamponnée au phosphate, les préparations étaient examinées au microscope à fluorescence (longueur d'onde $\lambda = 4100-3050 \text{ \AA}$).

Résultats

Résultats cliniques. A une exception près, celle du donneur T. E. suspecté le 7 juin 1965 d'une rechute clinique et parasitaire, toutefois non confirmée à l'examen du sang en goutte épaisse, aucun des autres donneurs suivis n'a présenté - durant toute la période d'observation - de manifestation clinique pouvant suggérer la possibilité de l'évolution d'une infection paludique.

Les examens hématologiques en goutte épaisse effectués soit avant et après la prise de sang, soit immédiatement après la confirmation du cas de paludisme provoqué ont été constamment négatifs.

Test d'immunofluorescence. Les résultats obtenus par le test d'immunofluorescence, exécuté avec les sérums des 78 donneurs observés sont consignés dans le tableau de la page 14).

On constate que la proportion de donneurs de sang qui ont réagi positivement au test d'immunofluorescence a été de 23 %; cette proportion représente un nombre appréciable de parasitémiés asymptomatiques à P. malariae existant en Roumanie parmi les donneurs de sang et explique, une fois de plus, l'apparition chaque année d'un certain nombre d'infections à P. malariae provoquées par des transfusions de sang.

Des données de ce même tableau, il ressort que le niveau des titres enregistrés varie, d'un cas à l'autre et chez le même sujet, et a un rapport avec les intervalles auxquels on a répété la réaction; en cas d'intervalles plus longs, on constate une diminution du titre ou même une négativité.

Les données permettent également de constater que l'intervention de la thérapie antipaludique ne produit pas la baisse immédiate du titre des anticorps sériques, fait par ailleurs également souligné par Collins et coll. (1964) et Lupasco et coll. (1966).

Coudert et coll. (1965) trouvent que "la médication antipaludique n'influence pas l'évolution sérologique"; dans les observations de ces auteurs, la médication antipaludique dans les infections à P. malariae consistait en quinine administrée par la bouche à raison de 1 g/jour pendant cinq jours. Si l'on considère l'évolution sérologique de nos donneurs (G. D. et St A.) on constate chez le premier, lors du test d'immunofluorescence, la persistance d'un titre élevé (1/1000) un an après l'application de la cure radicale, tandis que le second, initialement positif au titre de 1/2000, devint négatif après la même période d'un an suivant le traitement. Il ressortirait de ces deux observations que même la cure radicale n'influence pas toujours l'évolution sérologique.

La spécificité et la sensibilité du test d'immunofluorescence démontrées et reconnues par plusieurs chercheurs - Tobie & Coatney (1961), Tobie et coll. (1962), Ingram et coll. (1961), Voller (1962, 1964), Bruce-Chwatt (1965), Lunn et coll. (1966), etc. - sont confirmées dans le présent travail, aussi bien par les titres enregistrés chez les donneurs unique que - surtout - par la concordance entre le résultat du test d'immunofluorescence et l'isodiagnostic (cas des comeurs T. E. et C. Gh.).

Discussion

Après la seconde guerre mondiale, l'intérêt porté au problème de l'immunité antipaludique a connu une période d'accalmie relative; ces dernières années, les progrès réalisés par l'immunologie ont redonné une nouvelle actualité tant au problème de l'immunité antiparasitaire en général qu'à celui de l'immunité antipaludique en particulier (Ciucă et coll., 1955, 1964; Garnham, 1963; Benex, 1966, etc.).

Cohen et coll. (1961) ont montré que les paroxysmes de l'infection paludéenne aiguë, tout comme le paludisme chronique, s'accompagnent d'hyper-gamma-globulinémie, mais que cette modification sérique ne représente pas une réponse immunitaire spécifique, la synthèse des gamma-globulines pouvant être influencée par des facteurs autres que la présence du parasite ou de ses produits de métabolisme (comme par exemple le facteur génétique, la grossesse, l'état de sous-nutrition, etc.).

Tout en admettant que "probablement la plus grande partie des gamma-globulines synthétisées comme réponse à une infection paludique chronique ne représentent pas des anticorps protecteurs", Cohen et coll. ont toutefois démontré que la fraction 7 S-gamma-globuline du sérum des adultes est associée aux anticorps protecteurs; de même que cette fraction exerce un effet thérapeutique net (diminution de la paratémie et amélioration de l'état clinique) en cas d'infections sévères à P. falciparum contractées par voie naturelle.

Un effet similaire, mais avec un rythme sensiblement plus lent en ce qui concerne la disparition des parasites, a été signalé par les mêmes auteurs dans l'infection à P. malariae.

Les résultats de Cohen et coll. (1961), confirmés par Edozien et coll. (1962) et approfondis par Cohen & McGregor (1963), McGregor et coll. (1963) ont démontré que l'immunité antipaludique ne se différencie pas fondamentalement de l'immunité contre les infections de nature bactérienne, car elle est basée à égale mesure sur les deux facteurs essentiels : humoral et cellulaire.

Le fait que l'installation et le développement de l'immunité dans le paludisme sont plus lents que dans les maladies bactériennes est attribué par Cohen & McGregor (1963), d'une part, à la faible antigénicité du parasite malarique et, d'autre part, à la diversité sérologique existant à l'intérieur d'une même espèce de plasmodium.

Les différents auteurs ont montré, au long des années et en utilisant les techniques sérologiques utilisées en bactériologie, qu'au cours de l'infection paludéenne on peut déceler des anticorps fixateurs de complément (Eaton & Coggeshall, 1939), agglutinants (Eaton, 1938) et/ou précipitants (Pewny, 1918). Cependant, les résultats obtenus n'indiquaient pour aucune de ces réactions une spécificité d'espèce, leur valeur pratique étant annulée par les difficultés d'obtenir un antigène satisfaisant.

L'introduction de la technique de coloration fluorescente des anticorps, utilisant comme antigène des frottis de sang à très forte densité parasitaire, a mis à la disposition des paludologues un test d'immuno-diagnostic sensible et spécifique, d'une incontestable utilité pratique, surtout dans les conditions rencontrées lors de l'éradication du paludisme et, une fois celle-ci réalisée, lors de son maintien.

Du fait qu'il permet l'identification des parasitémiques asymptomatiques, indécélables ou difficilement décelables par l'examen hématologique de routine, ce test acquiert - même s'il n'est pas aussi "indiscutable que la mise en évidence des parasites" (Coudert et coll., 1965) - une signification et une importance épidémiologiques de premier ordre. La possibilité d'effectuer des prises minimales de sang sur des morceaux de papier (Bray, 1962; Diggs & Sadun, 1965) facilitera l'application à grande échelle de ce test aux enquêtes de masse.

Les résultats que nous avons obtenus en utilisant le test d'immunofluorescence ont permis la sélection des donneurs de sang à parasitémie asymptomatique, grâce à leur réponse immunitaire reflétée par les titres relativement élevés fournis par la réaction de coloration fluorescente des anticorps sériques.

Un corollaire à application pratique immédiate de cette sélection a été l'élimination des sujets en cause, du groupe des donneurs jusqu'à l'administration, sous surveillance médicale rigoureuse, d'un traitement standard de cure radicale. Le temps seul permettra de juger de l'efficacité de cette mesure sur l'incidence des cas d'infections à P. malariae provoqués.

Nous avons également montré que le niveau des titres enregistrés varie d'un cas à l'autre et chez le même sujet, en fonction des intervalles auxquels on répète la réaction; en cas d'intervalles plus longs, on enregistre une diminution sensible du titre allant même jusqu'à la négativité, parfois indépendamment de l'intervention des médicaments antipaludiques.

Voller & Bray (1962), en déterminant le niveau des anticorps sériques à l'aide du test d'immunofluorescence parmi une population d'une région d'Afrique exposée à l'infection à P. falciparum, constatent des titres élevés dans le sang du cordon ombilical des nouveau-nés; ces titres diminuent au cours des six premiers mois et se maintiennent à un niveau bas jusqu'au trentième mois de la vie. Par la suite, le niveau des anticorps recommence à s'élever jusqu'à un plateau qui est atteint aux environs de la dixième année.

Les mêmes auteurs constatent que les sujets ayant une histoire récente de paludisme présentent des titres sensiblement plus élevés; ils en concluent que le maintien des anticorps à un niveau élevé exige une réinfection répétée.

D'autre part, McGregor et coll. (1965) lors d'une étude similaire effectuée sur une population africaine de divers groupes d'âge résidant dans un milieu hyper-endémique affirment que, dans les groupes d'âge plus avancés, la diminution progressive de la densité parasitaire semble s'accompagner d'une hausse du titre des anticorps; selon les auteurs, cette constatation "permet de présumer l'existence d'une corrélation directe entre le titre des anticorps fluorescents et le degré d'immunité effectivement acquise".

En ce qui concerne l'évolution et la durée de la réponse immunitaire dans le paludisme expérimental à P. vivax, nous considérons intéressants les résultats signalés par Coudert et coll. (1965) obtenus chez 12 malades impaludés thérapeutiquement

avec du sang virulent, par comparaison aux données de Kuvin et coll. (1962) pour le paludisme à P. vivax transmis par des moustiques. C'est ainsi que dans les deux alternatives, le titre maximum a été atteint aux environs du trentième jour après l'impaludation (1:320 dans l'impaludation avec du sang virulent et 1:2560 dans l'impaludation par les moustiques); ce titre a baissé, en moyenne, jusqu'à 1:40 après 130 jours depuis l'impaludation.

Révélatrices, et tout aussi intéressantes, sont les observations des mêmes auteurs, concernant l'évolution sérologique du paludisme humain spontané, poursuivie à l'aide de la réaction d'immunofluorescence aussi bien sur un groupe de malades avec accès manifestes de paludisme à P. vivax que sur 22 sujets avec ou sans antécédents paludiques, mais qui avaient séjourné pendant de longues périodes dans des zones endémiques d'Afrique.

Les titres obtenus par le test d'immunofluorescence ont été élevés chez tous les malades présentant un paludisme manifeste mais ont sensiblement varié chez les sujets du second groupe où ils étaient trouvés en moyenne beaucoup plus bas, surtout chez les sujets d'origine africaine. Les auteurs soulignent comme important le fait que la durée de la réponse immunologique a dépassé - dans certains cas - la limite considérée extrême pour la survie des plasmodiums.

Dans l'infection à P. malariae, Lupasco et coll. (1966), en étudiant grâce au test d'immunofluorescence l'évolution sérologique chez des malades à impaludation thérapeutique, montrent que le titre des anticorps varie depuis l'apparition de la parasitémie et jusqu'au 50-60ème jour entre 1:1000-1:2000, atteignant 1:5000 chez un malade dont la période d'observation a été plus prolongée (227 jours).

Collins et coll. (1964), en étudiant l'élaboration et la persistance des anticorps chez des malades infectés à P. malariae, arrivent à la conclusion que, dans l'infection due à cette espèce plasmodiale, il paraît exister certaines différences entre l'élaboration des anticorps et sa relation avec la parasitémie et l'attaque clinique; de même, ces auteurs constatent qu'entre les anticorps et la parasitémie sous-clinique semble s'établir un équilibre pouvant persister pendant de longues périodes de temps.

Cette conclusion trouve également sa confirmation dans nos résultats; en effet, les parasitémies asymptomatiques décelées par le test de l'immunofluorescence chez les donneurs de sang représentent, en fait, des infections latentes, sous-cliniques, de longue durée, dont les titres variables d'anticorps correspondent, selon toute probabilité, à l'existence de parasitémies réduites, mais persistantes, constituant le stimulus prolongé exercé sur les mécanismes de défense de l'organisme.

Résumé

On a étudié, au moyen de la réaction d'immunofluorescence, 78 donneurs de sang impliqués à l'origine de 14 infections à P. malariae provoquées en obtenant 18 résultats positifs (23 % des cas) avec des titres variant de 1:50 à 1:5000.

Deux des donneurs avec le test d'immunofluorescence positif ont été confirmés comme parasitémiques aussi par l'épreuve de l'isodiagnostic.

Le test d'immunofluorescence peut rendre de réels services dans le dépistage des parasitémies asymptomatiques et, par la suite, aider à l'élimination des sources potentielles d'infection grâce au traitement antipaludique de cure radicale.

Remerciements

Les investigations épidémiologiques sur le terrain et le prélèvement des échantillons sanguins ont été réalisés avec le concours de Messieurs les Docteurs C. Floresco, I. Gima, C. Onciul, A. Ghelber, V. Mazilu. L'isodiagnostic a été réalisé avec le bienveillant concours de Mesdames les Docteurs Eugenia Negulici et Piereta Constantinesco, qui nous ont également fourni l'antigène nécessaire. Nous leur présentons nos plus vifs remerciements.

SUMMARY

Prior to the malaria eradication programme in Romania which was completed at the end of 1965, infections due to Plasmodium malariae did not exceed 2.5% of all cases of malaria notified. But during the years 1963 to 1965 every one of the few indigenous cases reported was quartan malaria. Of the 365 microscopically confirmed cases of malaria occurring between 1959 and 1965, 130 (35.4%) were due to P. malariae and of these, 112 (86.1%) followed blood transfusions.

In view of the prevalence of induced malaria following blood transfusions a study was made on the possible advantages of using the fluorescent antibody technique as a screening device for blood donors with the special VS strain of P. malariae providing the antigen.

Using this method on 78 donors whose blood had been given to 14 patients who subsequently developed quartan malaria, 18 positives (23%) were found with titres varying between 1/50 and 1/5000. In the case of two of the donors the results were confirmed by isodiagnostic tests in neuro-syphilitic patients.

It thus appears that the employment of the fluorescent antibody test may be of value in the detection of cases with asymptomatic parasitaemia, particularly where there is a very low parasite density.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Benex, J. (1966) Biol. Méd., 40, 285
- Bray, R. S. (1962) Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 56, 436
- Bruce-Chwatt, L. J. (1965) Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 59, 105
- Ciucă, M., Chelaresco, M., Sofletea, A., Constantinesco, P., Teriteanu, E., Cortez, P., Balanovschi, G. & Ilies, M. (1955) Contribution expérimentale à l'étude de l'immunité dans le paludisme, Acad. R.P.R., Bucarest
- Ciucă, M., Lupasco, G., Negulici, E. & Constantinesco, P. (1964) Arch. roum. Path. exp. Microbiol., 23, 763
- Cohen, S., McGregor, I. A. & Carrington, S. (1961) Nature (London), 192, 733
- Cohen, S. & McGregor, I. A. (1963) In: Immunity to Protozoa (Ed P.C.C. Garnham et al.), Oxford
- Collins, W. E., Jeffery, G. M. & Skinner, J. G. (1964) Amer. J. trop. Med. Hyg., 13, 7
- Coudert, J., Garin, J. P., Ambroise-Thomas, P., Saliou, P. & Lu Huynh Thank (1965) Bull. Soc. Path. exot., 58, 188
- Diggs, C. L. & Sadun, E. H. (1965) Experim. Parasit. (New York), 16, 217
- Eaton, M. D. (1938) J. exp. Med., 67, 857
- Eaton, M. D. & Coggeshall, L. T. (1939) J. exp. Med., 70, 141
- Edozien, J. C., Gilles, H. M. & Udeozo, I. O. K. (1962) Lancet, 1, 251
- Garnham, P. C. C. (1963) In: Immunity to Protozoa (Ed P.C.C. Garnham, A. E. Pierce & I. Roitt), Oxford
- Ingram, R. G., Otken, L. G. & Jumper, J. R. (1961) Proc. Soc. exp. Biol. (New York), 106, 52
- Kuvin, S. F., Tobie, J. E., Evans, C. B., Coatney, G. R. & Contacos, P. G. (1962) Science, 135, 1130
- Lunn, J. S., Chin, W., Contacos, P. G. & Coatney, G. R. (1966) Amer. J. trop. Med. Hyg., 1, 3

- Lupasco, Gh., Bossie-Agavriiloaei, A., Smolinschi, M., Ballif-Negulici, E., Constantinesco, P., Isfan, Tr., Petrea, D., Mazilu, V. & Roman, V. (1963) Arch. roum. Path. exp. Microbiol., 22, 333
- Lupasco, Gh., Bona, C., Ciplea, Al. Gh., Ianco, I., Ioanid, L., Ballif-Negulici, E. & Constantinesco, P. (1966) Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 60, 208
- McGregor, I. A., Carrington, S. P. & Cohen, S. (1963) Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 57, 170
- McGregor, I. A., Williams, K., Voller, A. & Billewicz, W. Z. (1965) Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 59, 395
- Morcos, W. M. (1961) Riv. Malar., 40, 41
- Organisation mondiale de la Santé (1965) Immunologie et maladies parasitaires, Rapport d'un Comité d'experts. Org. mond. Santé Sér. Rapp. techn., 315
- Pewny, W. (1918) Wien. Klin. Wschr., 31, 205
- Tobie, J. E. & Coatney, G. R. (1961) Exp. Parasit., 11, 128
- Tobie, J. E., Kuvin, S. F., Contacos, P. G., Coatney, G. R. & Evans, C. (1962) Amer. J. trop. Med. Hyg., 11, 589
- Voller, A. (1962) Bull. Org. mond. Santé, 27, 283
- Voller, A. & Bray, R. S. (1962) Proc. Soc. exp. Biol., 110, 907
- Voller, A. (1964) Bull. Org. mond. Santé, 30, 343
- Voller, A. & Wilson, H. (1964) Brit. Med. J., 2, 1551

TABEAU

Cas de paludisme provoqué	Nombre de donneurs impliqués et examinés	Donneurs positifs RIF	Réaction d'immunofluorescence		Isodiagnostic	Traitement anti-paludique des donneurs positifs au RIF
			Titre	Date		
T.V.	4	T.E.	+ 1/200 + 1/500 1/1000	23.IV.1965 1.VII.1965	<u>Positif</u> Le 8.V.1965 on a inoculé par voie intraveineuse 180 ml de sang de T.E. au malade M.T. avec neuro-syphilis. Le 2.VI.1965 on décèle le parasite (<i>P. malariae</i>) dans le sang de M.T. et le 6-7.VI on note le premier accès.	Cure radicale 14-27.VI.1965
V.E.	1	C.Gh.	++ 1/200 + 1/300 + 1/100	29.IV.1965 10.II.1966	<u>Positif</u> Le 1.VIII.1964 on a inoculé par voie intraveineuse 180 ml de sang de C.Gh. au malade I.I. avec neuro-syphilis. Le 21.VIII.1964 on décèle le parasite (<i>P. malariae</i>) dans le sang de I.I. et le 12.IX on note le premier accès.	Cure radicale 5-19.VIII.1964
F.E.	4	G.D.	+ 1/1000 + 1/50	5.VI.1965 10.II.1966		Cure radicale 7-21.VI.1964
I.S.	1	B.Gh.	+ 1/100	6.V.1965		Cure radicale 8-22.IV.1965
N.V.	1	St.A.	+ 1/2000 + 1/3000 + 1/5000 = négatif	8.VI.1965 17.VII.1966		Non traité
B.I.	3	D.I.	+ 1/50 + 1/100	1.VII.1965 3.XI.1965		Non traité
S.E.	1	B.I.	+ 1/2000 + 1/1000	23.XI.1965 26.II.1966		Non traité
D.N.	5	U.R.	+ 1/300 + 1/50	23.III.1966 24.X.1966		Non traité
C.V.	27	P.C.	+ 1/50	4.IV.1966		Non traité
		U.D.	+ 1/100	23.IV.1966		Cure radicale (mai 1966)
		R.A.	+ 1/50	23.IV.1966		Idem
		R.An.	+ 1/100	31.V.1966		Idem
D.M.	10	P.A.	+ 1/50	27.IV.1966		Idem
		I.Cl.	+ 1/100 + 1/200 + 1/50	20.IV.1966 3.V.1966		Idem
H.C.	8	T.P.	+ 1/50 négatif	24.V.1966 3.VIII.1966		Non traité
M.L.	6	P.P.	+ 1/100	14.VII.1966		Cure radicale (juillet 1966)
N.I.	2	C.V.	+ 1/1000	17.VIII.1966		Non traité
H.P.	5	P.I.	+ 1/200	31.V.1966		Cure radicale 20.VII-3.VIII.1966
Total 14	78	18 (23 %)			2	

Le but des documents de la série WHO/Mal est le suivant :

- a) mettre le personnel de l'OMS, les instituts nationaux, les chercheurs et les travailleurs de la santé publique au courant de l'évolution des recherches sur le paludisme et des progrès de l'éradication du paludisme au moyen d'exposés succincts relatifs à quelques problèmes en cause;
- b) distribuer, aux catégories de lecteurs indiquées ci-dessus, les rapports d'opérations et autres communications qui présentent un intérêt particulier, mais qui ne sont pas normalement imprimés dans les publications de l'OMS;
- c) communiquer aux intéressés différents articles qui sont destinés à la publication mais qui, en raison de leur actualité, méritent d'être rapidement connus.

On notera que les résumés de travaux non publiés représentent souvent des rapports préliminaires d'investigations; les conclusions de ces travaux peuvent donc être sujettes à des révisions ultérieures.

La mention des manufactures et des produits commerciaux n'implique pas que ces maisons ou leurs produits soient recommandés ou approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres.