

## PALUDISME SUR LES HAUTES TERRES CENTRALES DE MADAGASCAR : STRATÉGIES DE LUTTE

L.P. RABARIJAONA, T. RABE, L.H. RANAIVO, L.A. RAHARIMALALA, F. RAKOTOMANANA, E.M. RAKOTONDRAIBE, B. RAMAROSANDRATANA, J.D. RAKOTOSON, L.A. RAKOTONJANABELO, P.B. TAFANGY

*Med Trop* 2006 ; 66 : 504-512

**RÉSUMÉ** • Le présent article présente le paludisme sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar et les stratégies pour améliorer les composantes du programme national de lutte contre le paludisme. Pour la prise en charge du patient suspect d'accès palustre, l'utilisation des bandelettes de diagnostic rapide, la prise en charge précoce à domicile par la chloroquine pré-emballée et les réflexions sur les nouvelles combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine sont discutées. Pour les mesures de prévention, l'alternance des pulvérisations intra domiciliaires ciblées et généralisées dans la lutte antivectorielle, l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides, le passage au traitement préventif intermittent pour les groupes à risque, l'amélioration du système de surveillance et d'alerte épidémique par l'utilisation de la méthode de Lot Quality Assurance Sampling pour l'investigation épidémiologique en cas de dépassement du seuil d'alerte et la mise à disposition des bandelettes de diagnostic rapide sont étudiés.

**MOTS-CLÉS** • Paludisme – Prise en charge – Surveillance – Programme National de Lutte – Madagascar.

### MALARIA IN THE CENTRAL HIGHLANDS OF MADAGASCAR: CONTROL STRATEGIES

**ABSTRACT** • The purpose of this article is to present data on malaria in the central highland plateaux of Madagascar and strategies to improve the national malaria control program. Use of rapid diagnosis strips, early home-based fever management with pre-pack aged chloroquine treatment kits and proposed new therapeutic combination based on artemisinin are discussed for management of patients with high suspicion of malaria at a t a c k . Preventive measures including alternated targeted and full-house indoor spraying for vector control, use of insecticide-impregnated bednets, implementation of intermittent preventive treatment in risk groups, optimization of the epidemic early detection and warning system using the Lot Quality Assurance Sampling method for epidemiological investigation if the alert threshold is exceeded, and provision of rapid diagnosis strips are presented.

**KEY WORDS** • Malaria – Management – Surveillance – National control program – Madagascar.

**A** l'origine d'une consultation sur cinq dans les dispensaires, le paludisme reste un problème de santé publique prioritaire à Madagascar avec une transmission stable sur les zones côtières de l'Est et de l'Ouest, et une transmission saisonnière dans le Sud subdésertique et sur les hautes terres centrales (HTC). Les conditions de transmis-

sion du paludisme sont ainsi très hétérogènes, et justifient une stratégie modulée en fonction des paramètres environnementaux, culturels et épidémiologiques (1-4).

Le programme national de lutte contre le paludisme sur les HTC comprend différentes composantes : la prise en charge précoce, les mesures de prévention, la lutte antivectorielle et le système de surveillance et d'alerte. Pour la prise en charge des cas, la mise à disposition de bandelettes de diagnostic rapide est capitale en l'absence de diagnostic par microscopie. De même, le passage au traitement par une combinaison à base d'artémisinine, molécules plus chères que la chloroquine, doit être accompagné d'un diagnostic biologique. Les mesures préventives mettent l'accent sur la vulgarisation de l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides auprès des groupes les plus vulnérables en priorité, les femmes enceintes et les enfants. Pour les femmes en consultation prénatale, la possibilité d'appliquer un traitement préventif intermittent par la sulfadoxine pyriméthamine est à l'étude. Enfin, avec l'appui de l'Institut Pasteur de

• Travail du Groupe de Recherche sur le Paludisme (L.P.R., L.A.R., Médecins, Chargés de Recherche; T.R., Stagiaire; F.R., Médecin, Assistant de Recherche), Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, du Service de Lutte contre le paludisme et la peste (L.H.R., B.R., J.D.R., Médecins; E.M.R., Entomologiste; P.B.T., Médecin, Chef de Service) Ministère de la Santé et du Planning Familial, Antananarivo et de l'Organisation Mondiale Santé (L.A.R., Médecin, Directeur, Chargé de Programme de Prévention et Lutte contre les Maladies), Antananarivo, Madagascar.

• Correspondance : L.P. Rabarijaona, Institut Pasteur de Madagascar, BP1274, 101 Antananarivo, Madagascar • Fax 261 20 22 415 34.

• Courriel : leon@pasteur.mg

• Article reçu le 17/08/2005, définitivement accepté le 22/06/2006.

Madagascar, de nouveaux outils associant le Système d'Information Géographique (SIG) et la télédétection ou encore la méthode statistique d'échantillonnage par lots pour l'assurance de la qualité (Lot Quality Assurance Sampling ou LQAS), sont évalués afin d'améliorer le système d'alerte et de surveillance du paludisme sur les Hautes Terres Centrales et dans le Sud de Madagascar.

Cet article a pour objectif de faire une revue des données relatives à la dernière épidémie de paludisme sur les Hautes Terres Centrales et de proposer des solutions et des stratégies selon les niveaux et les composants du programme national de lutte.

### LA DERNIÈRE ÉPIDÉMIE DE PALUDISME SUR LES HTC : LE « BEMANGOVITRA » ET LES PULVÉRISATION INTRA DOMICILIAIRES DE DDT

Au début des années 1980, une augmentation de cas de paludisme diagnostiqués dans les formations sanitaires des HTC a été notée (5, 6). En 1988, dans le village de Manarintsoa, à 20 km au Sud-ouest d'Antananarivo, la mortalité a atteint des proportions plus qu'inquiétantes et l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) a installé une base de soins et d'étude (7). En octobre 1988, Mouchet et Baudon estimaient la surmortalité due au paludisme dans une fourchette de 10 000 à 25 000 décès par an pour l'ensemble des HTC (8). Cette estimation recoupait celle des autorités de santé malgaches qui, depuis 1981, signalaient une recrudescence de la maladie (7, 9). Les figures 1 et 2 montrent successivement le nombre et la proportion de cas de paludisme suspectés parmi les patients fébriles dans les provinces d'Antananarivo, Fianarantsoa et Toamasina de 1974 à 1988.

Les pulvérisations intra-domiciliaires de DDT ont été reprises en 1988 dans les principaux foyers puis étendues à la plupart des communes rurales situées entre 1 000 et 1 500 m d'altitude, strate généralement considérée à paludisme instable. Le nombre d'habitants protégés a été évalué à 720 000 en 1988-1989, 80 000 en 1989-1990, 480 000 en 1990-1991 et 2 400 000 en moyenne entre 1993-1997,

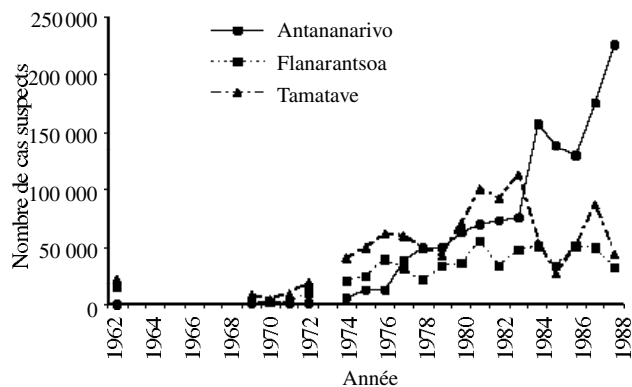


Figure 1 - Cas suspects de paludisme dans les Provinces d'Antananarivo, Fianarantsoa et Tamatave 1962 - 1988. (1972-1973 : troubles socio-politiques) (Source : Service de Lutte Contre le Paludisme, Ministère de la Santé).

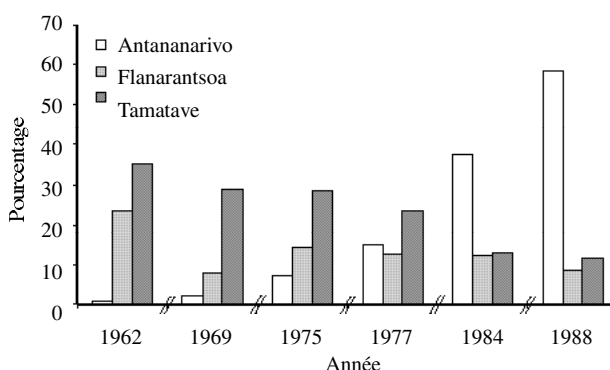


Figure 2 - Proportion de cas suspects de paludisme parmi les consultants pour syndrome fébrile dans les provinces d'Antananarivo, Fianarantsoa et Tamatave 1962-1988. (Source : Service de Lutte Contre le Paludisme, Ministère de la Santé).

période pendant laquelle ces campagnes ont été dénommées « opérations de pulvérisation intradomiciliaire » (OPID). L'insecticide utilisé était le DDT sous forme de poudre mouillable à 75 %, pulvérisé à la dose de 2 g/m<sup>2</sup> (10,11). Le financement de l'OPID était assuré par des crédits de la Banque Mondiale estimés à 1 million de dollars par an. A l'arrêt de l'OPID en 1997, un système d'alerte clinique a été mis en place avec l'appui financier de la Coopération Italienne. Le choix des zones à pulvériser reposait dès lors sur les seuils d'alerte estimés à partir des données en nombre de cas suspects (cliniques) déclarés des années antérieures. La campagne d'aspersion intradomiciliaire (CAID) prend sur cette base le relais de l'OPID en 1999. Afin de prévenir la réapparition du paludisme dans les HTC et dans les zones urbaines et périurbaines des HTC elle est étendue sur les marges des Hautes Terres, zones jamais traitées situées entre 800 et 1 000 m d'altitude en plus des zones considérées comme des foyers résiduels à risque (12) (Fig. 3).

Cette épidémie des années 1980 a fortement influencé les modalités de prise en charge des cas de paludisme et des syndromes fébriles sur les HTC. Les propositions qui suivent ont pour principaux objectifs d'optimiser la prise en charge des syndromes fébriles, les mesures de prévention et le système de surveillance et d'alerte épidémique du paludisme.

### PROPOSITIONS POUR UNE STRATÉGIE ROLL BACK MALARIA DU XXI<sup>e</sup> SIÈCLE

#### Traitement : les médicaments de prise en charge précoce

L'objectif « Santé pour tous » est actuellement une des priorités du Ministère de la Santé et du Planning Familial. Personne ne devrait plus mourir de paludisme.

La chloroquine a été utilisée à Madagascar depuis 1945 pour la prévention et le traitement du paludisme (13). La chloroquine est restée jusqu'à ce jour pour le Programme National de lutte le médicament de première ligne en vigueur à Madagascar pour le traitement des cas de paludisme non

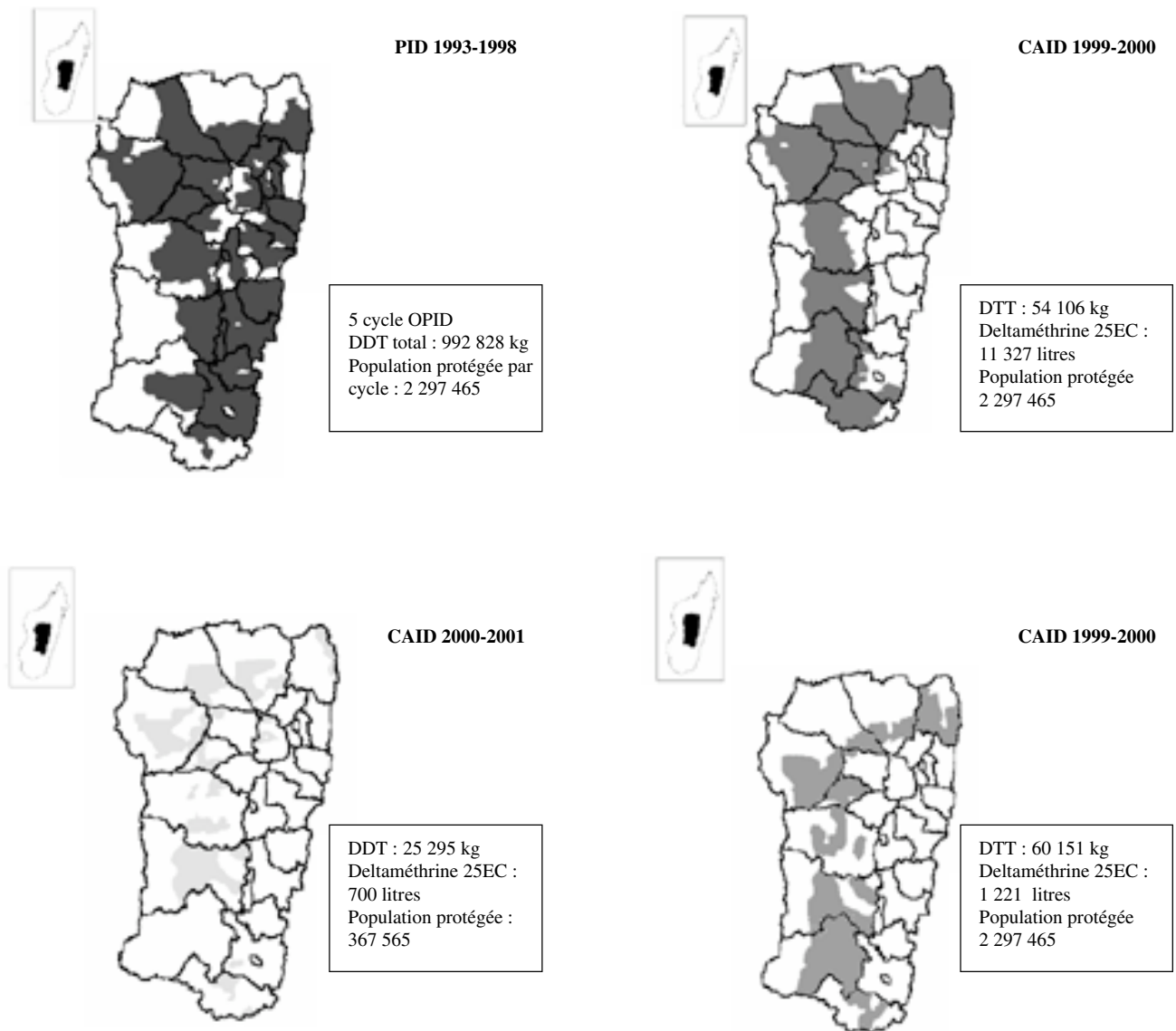


Figure 3 : Aspersions intra-domiciliaires de 1993 à 2003. Hautes Terres Centrales de Madagascar.

\*\* Population protégée = population habitant les zones pulvérisées

compliqués (12, 14). De la chloroquine préemballée est aussi utilisée pour la prise en charge précoce à domicile des cas de paludisme simples des enfants de moins de 5 ans dans le but d'éviter l'aggravation et la mortalité à domicile. Jusqu'à maintenant, si aucun cas de résistance de type R3 n'a été détecté à Madagascar, des résistances de type R1 et R2 ou de type échecs cliniques et parasitologiques tardifs ont été rapportées (15, 16). Récemment, Randrianarivoelosia *et Coll* ont, pour la première fois, détecté l'existence de souches de *P. falciparum* mutant T76 pour le gène *pfert* (17).

Actuellement, la mise en place d'un schéma thérapeutique basé sur des associations thérapeutiques à base d'artémisinine est inscrite dans la politique nationale de lutte. Cette mise en place se fera de façon progressive. Ainsi, pendant une phase transitoire, on peut proposer la stratégie sui-

vante : la chloroquine préemballée pour la prise en charge des syndromes fébriles à domicile et un médicament de deuxième recours, « Artemisinin-based Combination Therapy » (ACT) ; Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine (CTA), pour les cas traités dans les formations sanitaires, après un test de diagnostic positif par bandelettes réactives. La mise à disposition d'un CTA au niveau des Centres de Santé de Base (CSB) permettrait de réserver la quinine uniquement aux formes graves du paludisme. Dans le contexte actuel de Madagascar en général et des HTC en particulier, les combinaisons thérapeutiques offrent la possibilité d'une plus longue efficacité thérapeutique pour chacun des antipaludiques qui les composent. Un autre avantage potentiel lié à la composante artémisinine, est la diminution de la transmission grâce à une diminution de 90 % de la

gamétocytémie chez les sujets traités (18). L'utilisation de CTA couplée aux pulvérisations intradomiciliaires d'insecticides serait d'un apport considérable pour le contrôle du paludisme sur les HTC. Toutefois, le succès de la mise en place de CTA en tant que stratégie visant à enrayer la pharmacorésistance et à réduire la transmission, dépend en partie de la coordination entre les secteurs public et privé. En Afrique subsaharienne, la proportion des malades qui ont recours au traitement antipaludique en dehors du circuit officiel varie de 12 à 82% (18, 19). La position dominante du secteur privé dans la délivrance du traitement antipaludique doit être prise en compte pour éviter les mauvaises pratiques en matière de prescription entraînant la diffusion permanente de presque tous les médicaments antipaludiques existants sur le marché sous forme, le plus souvent, de monothérapie (20, 21). Ces pratiques s'expliqueraient par le souci, de la plupart des personnels de santé exerçant en libéral, de « rapper fort » pour guérir le plus vite possible le patient et de pouvoir garder sa confiance. De même, l'atténuation rapide des symptômes après le traitement par des dérivés de l'artémisinine, qui constitue l'avantage le plus apparent aux yeux des utilisateurs, pourra à elle seule conduire à des schémas thérapeutiques tronqués ou à une monothérapie par l'artémisinine (18, 22). L'amélioration d'une telle situation se fait par un effort de formation et par un conditionnement adapté des produits. En effet, le traitement associé risque d'être encore plus vulnérable si la stratégie oblige à prendre plusieurs médicaments sous forme de plusieurs comprimés en même temps (co-administration) plutôt que les différents produits sous la forme d'un seul comprimé (co-formulation). La mise en œuvre de ces combinaisons thérapeutiques doit s'appuyer sur un suivi permanent de leur efficacité et de leur innocuité, notamment chez les très jeunes enfants, les femmes enceintes, les mères allaitantes et leurs nourrissons. Compte tenu des données dont on dispose sur la sécurité et l'efficacité des antipaludiques, l'OMS préconise les options thérapeutiques suivantes : artémeter plus luméfantine, artésunate plus amodiaquine, artésunate plus sulfadoxine pyriméthamine (SP) dans les régions où l'efficacité de la SP reste élevée, amodiaquine plus SP dans les régions où l'efficacité de la SP et de l'amodiaquine reste élevée (23). Le coût actuel d'un traitement avec une CTA est compris entre 1 et 3 dollars US (24). Les offres les plus favorables obtenues pour la combinaison artésunate amodiaquine sont de l'ordre de 1,5 dollars US pour un traitement adulte (25). En cas d'épidémie, l'option d'un traitement combiné pourrait être intéressante pour couper rapidement la transmission (effet gamétocytocide de l'artémisinine) (18).

Signalons aussi que certaines études ont examiné l'efficacité d'associations médicamenteuses ne contenant pas de dérivés de l'artémisinine, et notamment la sulfadoxine pyriméthamine (SP) associée à la méfloquine (26) ainsi que de SP associée à de la chloroquine (27). Ce sont des alternatives qui peuvent être étudiées en tenant compte du niveau de résistance à ces antipaludiques. Pour un pays comme Madagascar, ces associations pourraient être bénéfiques en terme de coût efficacité et pendant la période de transition vers la généralisation des CTA.

Enfin, l'évaluation de l'efficacité du traitement repose sur un renforcement de la surveillance de la résistance des parasites aux antipaludiques : un Réseau d'Etude de la Résistance (RER) doit être fonctionnel. Pour ce faire, il faut disposer de ressources humaines compétentes susceptibles de conduire des études *in vivo* et des laboratoires aptes à réaliser des études *in vitro*. La politique nationale doit identifier les molécules à évaluer en priorité, en l'occurrence celles qui devraient être utilisées en association avec les dérivés de l'artémisinine. Ces évaluations seront menées en priorité dans les régions où les données sont absentes en l'occurrence dans les régions Nord et Nord-Ouest. Ces régions sont d'autant plus importantes qu'elles servent de porte d'entrée et de sortie dans les échanges entre la Grande île et l'Archipel des Comores. Elles sont alors potentiellement plus exposées au risque d'introduction de parasites mutés présentant des chimiorésistances en provenance de l'archipel des Comores voire d'Afrique de l'Est. La prise en charge thérapeutique pour être optimale doit être précédée autant que possible d'un diagnostic biologique.

### Diagnostic biologique du paludisme dans les formations sanitaires

Un diagnostic adéquat est capital pour assurer l'efficacité du traitement antipaludique. Dans les régions de l'Asie du Sud-Est où le traitement associé a été le plus largement utilisé, il est de règle que le diagnostic soit posé dans un laboratoire du secteur public. Mais, en Afrique subsaharienne, ce genre de diagnostic est encore l'exception (28). Le diagnostic est le plus souvent clinique et il n'est pas rare que des fièvres soient, par excès, qualifiées de paludisme et traitées comme telles (29,30). Il est estimé que 50% des Africains traités par des antipaludiques, pour un syndrome fébrile, pouvaient en réalité ne pas être infectés par un Plasmodium (25). La situation est comparable à Madagascar : même dans les régions à transmission intense, la part du paludisme parmi les fièvres vues en consultation ne dépasse guère 50% et dans la ville d'Antananarivo, elle n'est que de 2% (Tableau I). L'idéal serait donc de doter chaque formation sanitaire d'un per-

Tableau I - Part du paludisme confirmé biologiquement parmi les fièvres vues en consultations dans les formations sanitaires en période de forte transmission (Novembre-Avril).

Site d'étude	Année	Nombre de patients	Plasmodies +
Sainte Marie	1997	547	249 (46%)
Tolagnaro	1996	541	236 (44%)
	1997	336	130 (39%)
Alaotra	1997	138	41 (30%)
Toamasina ville	1995	307	85 (28%)
	1997	151	42 (28%)
Nosy Be	1997	524	126 (24%)
Marovoay	1997	970	237 (24%)
Mahajanga	2001	735	67 (9%)
Mahajanga ville	1997	1548	116 (7%)
Antananarivo ville	2003	779	15 (2%)

Source : Groupe de Recherche sur le Paludisme. Institut Pasteur de Madagascar.

sonnel compétent et d'un microscope. Dans le contexte actuel, la mise à disposition des formations sanitaires de tests sur bandelettes de diagnostic rapide est cependant la solution la plus rationnelle. Ces tests sont basés sur la détection d'antigènes circulants de *Plasmodium* par immuno-capture (31, 32). Par rapport aux méthodes microscopiques, ils permettent d'obtenir un résultat plus rapidement (10 à 15 minutes), ne nécessitent qu'une courte formation et ont des performances comparables. La mise à disposition des CSB d'un test de diagnostic tel que OptiMAL-IT®, permet, en outre, le suivi thérapeutique puisqu'il se négative pratiquement en même temps que la parasitémie. L'avantage de l'utilisation des tests de diagnostic rapide est indiscutable dans les régions de faible endémicité ou à épidémie de paludisme : l'utilisation des bandelettes réduirait au minimum de moitié le nombre de cas de paludisme à traiter à condition que les prescripteurs arrivent à changer leurs habitudes de prescriptions (Tableau 1).

Le coût des tests sur bandelette reste toutefois encore trop élevé. Alors qu'un prix unitaire de 0,4 US \$ serait considéré comme acceptable pour la plupart des zones d'endémie (32), les prix relevés dans les pays en développement étaient de 1,2 à 2,25 US \$ pour ParaSight-F(r) et 3 US \$ pour le test OptiMAL-IT(r) (33,34). Ce coût baisse et il est possible d'en trouver aujourd'hui pour moins d'un dollar US (35). Toutefois, la présence des quatre espèces plasmodiales à Madagascar doit dicter le choix des tests bandelettes de diagnostic rapide.

Au total, avec un coût du diagnostic évalué à environ un dollar US par bandelette et celui d'un traitement par CTA estimé entre 2 et 3 US \$ un cas de paludisme biologiquement diagnostiqué et traité entraîne une dépense d'environ 3 à 4 US \$. Ce qui de prime abord pourrait sembler coûteux, doit être relativisé car il a été montré que le diagnostic biologique a pour effet de réduire considérablement l'emploi des antipaludiques (36). Si l'on veut faciliter l'usage adéquat du traitement associé (de combinaisons thérapeutiques) et garantir l'accès équitable au traitement, il faudrait parvenir à une baisse considérable du prix demandé au patient, compte tenu de l'intérêt sur un plan collectif.

Il est essentiel que chaque cas de paludisme soit correctement pris en charge sur les HTC car le paludisme y est instable, et la population est dépourvue de toute prémunition, donc la survenue d'un paludisme grave est à craindre. Par contre, ce niveau d'endémicité rend les mesures de prévention très efficaces.

## Mesures de prévention

### • *Système de surveillance du paludisme sur les HTC*

Un système de surveillance épidémiologique et d'alerte du paludisme sur les HTC, a été mis en place en 1998 par le Service de la Lutte contre le Paludisme (SLP) du Ministère de la Santé avec l'appui de la Coopération Italienne. L'évolution des cas est suivie à l'échelon le plus périphérique du système de santé, le Centre de Santé de Base (CSB), où la densité des cas est relativement élevée (1/8 500 habitants) (37). Le diagnostic microscopique étant

rarement disponible dans les CSB, la surveillance se base essentiellement sur le nombre de cas de paludisme présumé (température  $37,5^{\circ}\text{C}$ , sans signe clinique d'autres maladies) notifié en routine. Sur la base de certaines expériences (38) et des recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (39), un seuil mensuel d'alerte a été proposé pour tous les CSB des HTC. Ce seuil est calculé comme la moyenne mensuelle des cas de paludisme présumé notifiés au cours des 5 ans protégés par l'OPID + 2 écarts-types. Il est matérialisé sur un graphique de suivi, dont chaque CSB est doté en début d'année.

Afin d'appuyer les services de santé de district des HTC dans les activités de surveillance, le SLP a mis en place des Postes Sentinelles de Surveillance Epidémiologique (PSSE) dotés de moyens de diagnostic microscopique (goutte épaisse et frottis) du paludisme et placés sous la responsabilité d'un médecin. Si le seuil d'alerte est dépassé, le district charge le médecin du PSSE de référence, de la réalisation d'une investigation épidémiologique, dont les principales étapes sont : (i) la vérification du respect des critères de définition de cas de paludisme présumé (contrôle du registre, observation de la consultation); (ii) la confirmation parasitologique (microscopie) des cas présumés, diagnostiqués pendant l'investigation ainsi que l'analyse de leur provenance. Si possible, le médecin du PSSE complète l'investigation par une enquête clinique et biologique exhaustive auprès de l'école primaire de la localité en alerte. Cette approche est invalidée à cause des délais trop longs d'exécution des investigations épidémiologiques qui sont en moyenne de un mois. De plus le nombre élevé de fausses alertes et l'inaccessibilité géographique, surtout en période de pluies, des CSB en dépassement de seuil, rendent impossible la vérification systématique des alertes épidémiques. Cette inaccessibilité est d'autant plus lourde de conséquence qu'elle touche surtout les districts des marges Ouest et Nord-Ouest des HTC, zones à haut risque à cause de leur faible altitude et de leur proximité avec les zones à paludisme stable. Ce système de surveillance est basé sur un diagnostic peu spécifique dans un contexte général de faible transmission (HTC). Pour être un outil efficace, sa spécificité a été améliorée par le renforcement de la vérification des dépassements du seuil utilisant la méthode de l'échantillonnage par lots pour l'assurance de la qualité (LQAS) et par l'utilisation des tests de diagnostic rapide sur bandelettes. La méthode du LQAS est séduisante par sa finalité basée sur l'aide à la prise de décision et par les économies réalisées grâce à la taille réduite de l'échantillon. Pratiquement, le médecin du PSSE utilise dorénavant cette méthode de sondage pour la vérification des alertes au niveau de l'école primaire de la localité. Les responsables du Programme National ont adopté les plans de sondage (18,0) et (36,2) à deux seuils (5 % et 15 %). Le médecin du PSSE lit les 18 premières lames. Si un enfant au moins est parasité la zone est classée comme nécessitant une intervention (traitement des cas fébriles et pulvérisations intradomestiques d'insecticides). Si aucun enfant n'est positif, la zone est en dessous du seuil (15 %) : soit entre 5 et 15 %, soit inférieur à 5 %. Pour être sûr qu'on est inférieur à 15 % mais pas en deçà de 5 %, il est faut lire les 18 lames restantes

et raisonner selon le plan (36,2) pour prendre la décision. La méthode de LQAS a été validée par zone avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 94 % (37,40). Dans le système de surveillance, l'alerte se fonde souvent sur une mortalité excessive (cas regroupés dans le temps et géographiquement) ou sur l'abondance anormale de malades fébriles et de cas orientés pour troubles de la conscience constatés dans les CSB. Le non-respect de la définition opérationnelle pour les cas de paludisme présumés et les faibles taux de confirmation parasitologique des cas présumés suggèrent que le diagnostic clinique surestime largement la morbidité due au paludisme sur les HTC. La mise à disposition des PSSE et des CSB de bandelettes de diagnostic rapide améliorera la spécificité du système d'alerte et de surveillance. En plus, le système de surveillance et d'alerte doit évoluer vers un système de pré-alerte qui est une approche pluridisciplinaire incluant différents indicateurs : des indicateurs de vulnérabilité (faible immunité, malnutrition, pharmacorésistance...), des indicateurs de risque de transmission (données météorologiques), et des indicateurs de détection précoce (seuils épidémiques des centres de soins...).

• *Pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides rémanents*

Pour mieux comprendre la situation, une étude réalisée en 1998 a permis de préciser la situation du paludisme sur les Hautes Terres, après cinq années de pulvérisation de DDT (41). Elle montre que la prévalence parasitaire diminue globalement lorsque l'altitude s'accroît, passant de 11 % entre 700 mètres et 900 mètres à 0,4 % au-delà de 1 500 m. Cette étude a montré un net impact de l'OPID sur la prévalence parasitaire chez les enfants vivant en dessous de 1 500 m d'altitude. Cependant l'existence d'une discordance entre l'impact de l'OPID sur les prévalences parasitaires chez les enfants (différence très significative entre zones pulvérisées ou non), et sur le nombre d'écoles exemptes d'enfants parasités suggère que les pulvérisations font baisser la transmission mais qu'elles n'agissent pas sur l'équilibre global de la maladie dans la zone : elles ne permettent pas de « négativer » des écoles. L'existence de « poches de transmission » où la prévalence parasitaire dépasse 20 % reste un danger pour l'avenir, car ces zones sont des foyers de dissémination du paludisme car elles ne sont pas concernées par la lutte antivectorielle. L'existence d'une transmission à bas bruit sur toutes les Hautes Terres, sous-estimée par cette enquête de 1998 doit être mise en évidence par les techniques sérologiques. La recherche des anticorps spécifiques du paludisme dans la zone d'Antananarivo en l'absence de parasitémie était positive chez 20-65 % des enfants examinés. Les taux sérologiques relativement faibles et l'âge des enfants étudiés, suggèrent un contact récent (dans les deux ans) avec le parasite. Enfin, l'existence d'une transmission importante sur les marges des HTC (Est et Ouest) pour être à l'origine de réinvasion des HTC, essentiellement par le déplacement de porteurs de gamétocytes.

Les pulvérisations intra-domiciliaires doivent être menées régulièrement de façon ciblée ou large. Les critères de définition des zones à pulvériser reposent essentiellement

sur l'altitude. Pour optimiser les pulvérisations intradomiciliaires, le Groupe de Recherche sur le Paludisme de l'IPM a élaboré un outil dénommé « Système d'Information Géographique pour la prévention du Risque de survenue d'Epidémie de Paludisme / SIGREP ». En effet, la transmission du paludisme est influencée par l'environnement et est liée à la présence des étendues d'eau qui constituent des gîtes larvaires des anophèles vecteurs (42). On connaît déjà l'inféodation aux rizières d'*An. funestus*, vecteur principal du paludisme sur les HTC, et l'importance de l'altitude sur l'écologie des anophèles, comme sur la durée du cycle sporogonique (41). Des informations exactes sur les emplacements des gîtes larvaires potentiels et sur la distribution du risque de paludisme permettraient de cibler les interventions, en particulier les pulvérisations intra-domiciliaires. Le SIGREP permet d'utiliser au mieux les ressources limitées disponibles pour l'achat d'insecticides voire d'envisager l'utilisation d'insecticides plus coûteux mais moins polluants compte tenu du caractère ciblé des interventions. Le SIGREP permet d'associer des informations classiques sur les gîtes larvaires des vecteurs et sur l'incidence des cas au niveau des foyers avec les données satellitaires pour construire des modèles prévisionnels du risque de paludisme dans l'espace et dans le temps pour des zones définies.

• *Traitement préventif intermittent*

Dans certaines zones des HTC, la transmission reste relativement stable : dans les « poches de transmission » et les marges des HTC. Les femmes enceintes et les enfants de bas âge de ces zones doivent être alors protégés. Devant l'échec de la prévention par la chloroquine pour la femme enceinte, échec lié à la fois à la résistance des parasites à cette molécule et à l'observance de la prise, une autre stratégie est recommandée aujourd'hui : le Traitement Préventif Intermittent (TPI). Le TPI repose sur l'administration d'une dose curative d'un médicament antipaludique, en l'occurrence la sulfadoxine pyriméthamine. L'OMS recommande pour les femmes enceintes l'administration lors des consultations prénatales d'au moins deux doses thérapeutiques de sulfadoxine pyriméthamine (SP) : une dose au cours du deuxième trimestre de grossesse ou après les premiers mouvements fœtaux et la deuxième dose au troisième trimestre de grossesse. Toutefois, la SP ne doit pas être donnée avant le 4<sup>e</sup> mois (avant les premiers mouvements fœtaux) ni au dernier mois de la grossesse. L'objectif est d'éliminer les parasites du placenta à chaque administration, la majeure partie de la croissance fœtale s'effectuant entre la 24<sup>e</sup> et la 35<sup>e</sup> semaine de grossesse (43).

Enfin, le TPI doit faire partie d'un ensemble associant un traitement prompt du paludisme et l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides.

• *Moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII)*

Dans les zones épidémiques ou à paludisme instable comme sur une grande partie des HTC, la protection immunitaire est absente et chaque piqûre d'anophèle infecté peut entraîner un accès de paludisme et un risque non négligeable de décès en l'absence de traitement. Par conséquent, le bénéfice à long terme des MII est évident. Les femmes enceintes

et les enfants en bas âge des régions des HTC doivent bénéficier de la politique du Ministère de la Santé et du Planning Familial qui prône une distribution gratuite de MII à toutes les femmes enceintes qui viennent en consultation prénatale et aux enfants amenés dans les formations sanitaires pour la vaccination. Les MII représentent un outil de prévention remarquablement efficace pour diminuer l'incidence de la maladie. En plus de l'effet létal, ces produits insecticides (pyréthrinoides) exercent un effet excito-répulsif modifiant considérablement le comportement des moustiques en quête de leurs hôtes. Moins de moustiques entrent dans les maisons et ceux qui échappent à une action fatale du produit sont inhibés dans leur comportement piqueur. La présence d'une MII dans une pièce est aussi bénéfique pour tous ceux qui dorment sans moustiquaires dans la même pièce (44).

• *Protection des villes des Hautes Terres Centrales contre le ré-envahissement des parasites : paludisme urbain et sub-urbain*

Les phénomènes d'urbanisation rapide entraînent des répercussions majeures sur la transmission et l'épidémiologie du paludisme (45, 46). Les villes des Hautes Terres de Madagascar n'échappent pas à ces phénomènes. Cette urbanisation se fait de façon plus ou moins organisée et résulte en grande partie de l'exode rural. La concentration d'une grande population dans un espace réduit devrait théoriquement être accompagnée par la pollution et la destruction des points d'eau claire servant de gîtes aux vecteurs. Mais, si l'on prend le cas d'une ville comme Antananarivo, une fois installés, les paysans continuent la culture et la forte urbanisation co-existe avec une riziculture qui représente des gîtes potentiels pour les vecteurs tel *An. funestus*. Il est alors fort probable qu'une transmission autochtone existe et puisse éventuellement déclencher une épidémie. Le programme de lutte doit alors chercher à protéger la capitale et sa population qui n'a aucune prémunition ainsi que les autres villes des

HTC pour éviter les conséquences d'une épidémie telle que celle des années 1980. Les moyens de lutte existent et sont efficaces (surveillance, pulvérisations intra domiciliaires, meilleure prise en charge des cas). Parallèlement, des recherches opérationnelles doivent être menées en milieu urbain et sub-urbain pour mieux y comprendre la transmission et l'épidémiologie du paludisme. Pour illustrer, une enquête de prévalence du paludisme parmi les syndromes fébriles, réalisée dans 43 dispensaires urbains, a montré que les cas de paludisme confirmés ne représentaient que 2% des cas de fièvre inclus dans l'étude (15 cas sur 779 syndromes fébriles). La majorité était importée des zones côtières (13 cas sur 15), où la transmission est pérenne. Cependant, une transmission urbaine autochtone a été constatée chez 2 des consultants et 5 autres sujets identifiés lors d'une enquête de proximité. Les vecteurs *Anopheles arabiensis* et *Anopheles funestus* ont été retrouvés dans les maisons des malades, toutes situées à proximité de rizières. L'analyse génétique des souches de *Plasmodium falciparum* a permis de distinguer trois génotypes, agrégés par groupe d'habitation (47).

**Conduire des études longitudinales : exemple de Saharevo, site d'étude du Groupe de Recherche sur le Paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar**

Il est essentiel de disposer d'une cohorte pour mieux comprendre la transmission du paludisme et la possibilité de recolonisation des Hautes terres centrales par *Plasmodium* spp. Les régions des marges des HTC, où la transmission peut rester importante, peuvent être la principale source de réinvasion de parasites des HTC. La réinvasion pourrait se faire essentiellement par le déplacement de porteurs de gaméto-cytes. Le Groupe de Recherche sur le Paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar suit depuis 1996 une cohorte de 250 personnes dans le village de Saharevo, situé dans le district sanitaire de Moramanga, sur la marge Est des Hautes Terres

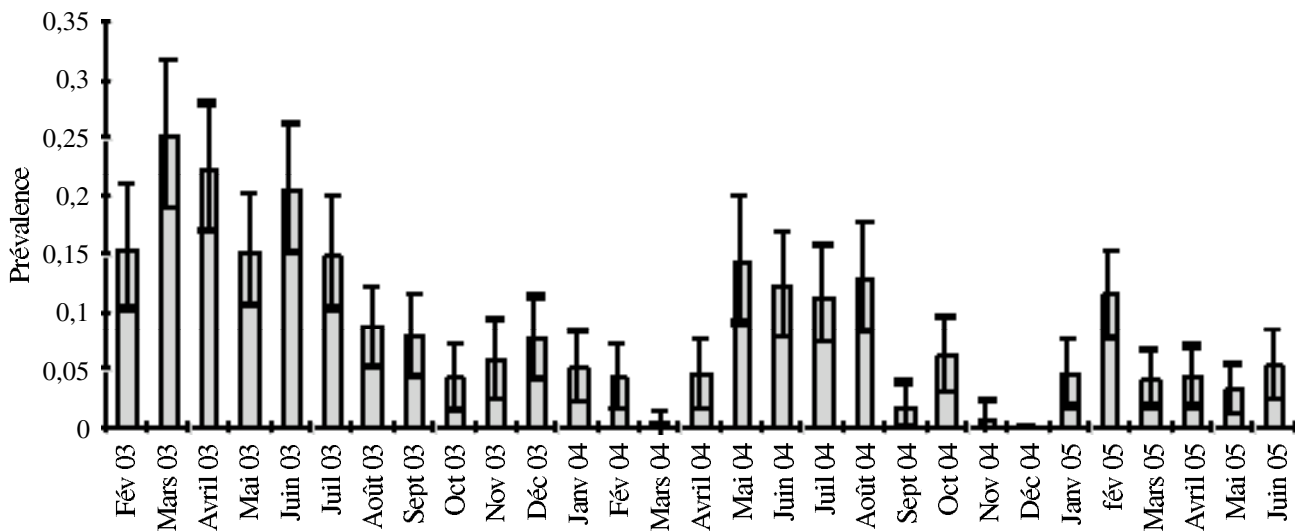


Figure 4 - Distribution du portage asymptomatique de Plasmodium falciparum selon le mois. Dépistage actif. Saharevo, Février 2003 à juin 2005.

Centrales. Les résultats obtenus montrent que la transmission se fait de façon continue avec une recrudescence saisonnière : transmission élevée de novembre à mai (saison chaude et pluvieuse) et plutôt faible de juin à octobre (saison froide et sèche). De même, le dépistage actif, effectué une fois par mois pour l'ensemble de la cohorte, montre un portage asymptomatique de parasites suffisant pour entretenir la transmission d'une saison à l'autre (Fig. 4). La réinvasion des Hautes Terres par les parasites peuvent alors se faire à partir de ces marges et pas forcément par les régions côtières.

La conduite d'une étude longitudinale permet aussi de répondre à des questions relatives à la lutte contre le paludisme telles que la susceptibilité des sujets au paludisme, la génétique des populations de parasites, la résistance des parasites aux antipaludiques.

### Moyens de suivi et d'évaluation de programme de lutte : surveillance des indicateurs du paludisme

Avec un crédit de la Banque Mondiale et l'aide technique de l'OMS, le Service de lutte contre le paludisme et l'IPM ont initié le projet «Surveillance des indicateurs du paludisme à Madagascar». Ces indicateurs sont constitués d'indicateurs d'impacts (taux de morbidité palustre et de létalité palustre, prévalence de l'infestation placentaire chez les femmes ayant accouché) et d'indicateurs de résultats du programme de lutte. Ces derniers sont établis en fonction des mesures de prévention (utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides, chimioprophylaxie...), du diagnostic, du traitement précoce de la maladie. La mise en place de responsables du suivi de ces indicateurs est effective. A ce jour, 12 sites, dont 2 sur les HTC, participent au recueil des données qui sont du Nord au Sud : Antsiranana, Sambava, Antsohihy, Mahajanga, Sainte Marie, Toamasina, Anjozorobe, Tsiroanomandidy, Morondava, Fianarantsoa, Manakara, Toliara. Ces indicateurs sont indispensables pour le suivi et l'évaluation du programme de lutte contre le paludisme. Les médecins chargés du suivi de ces indicateurs ont reçu une formation sur le paludisme (épidémiologie, diagnostic, traitement...). Ils représentent une ressource pour le responsable régional du paludisme pour la formation en cascade des autres personnels de santé notamment en matière de diagnostic du paludisme. Cette démarche confirme la volonté d'augmenter la disponibilité de moyens de diagnostic biologiques. Les sites « indicateurs du paludisme » doivent aussi participer au réseau d'étude pour la surveillance de la chimiorésistance des parasites aux antipaludiques. Enfin, la mise en place de ces indicateurs est essentielle pour suivre et évaluer l'impact de l'introduction des associations thérapeutiques à base d'artémisinine sur l'incidence de la mortalité et des formes graves de paludisme.

### Formation d'une masse critique de personnels compétents pour la lutte contre le paludisme

Les activités du programme national de lutte contre le paludisme requièrent une ressource en personnels compétents. Divers types de formation peuvent être proposés à ces personnels. Depuis, 2003, un cours international sur le

paludisme est organisé à l'IPM de Madagascar. Le cours est suivi par des personnels de divers pays impliqués dans la lutte contre le paludisme voire des responsables de programmes nationaux, eux-mêmes encadrés par des facilitateurs internationaux. L'objectif est de renforcer les compétences au sein même des zones d'endémies palustres. L'atelier se déroule pendant 6 semaines et utilise les nouvelles techniques d'informations et de communications. A la sortie du cours, les acteurs impliqués, en particulier les chercheurs, les médecins et les responsables des programmes au niveau ministériel, ont une bonne connaissance du paludisme et une gestion efficace de projets. Ils sont par la suite des interlocuteurs pertinents pour élaborer et faire avancer des programmes de lutte.

A côté de ce type de formation, des échanges de compétences, entre les divers acteurs de lutte et divers partenariats, doivent être régulièrement entretenus. Ainsi, dans le cadre du Réseau d'Etude de la Résistance, il est de pratique que les activités soient menées par une équipe mixte formée par le Service de Lutte contre le Paludisme du Ministère de la Santé et du Planning Familial et le Groupe de Recherche sur le Paludisme de l'IPM.

### Nouvelles sources de financements et de partenariats

Le Programme National de lutte contre le paludisme doit profiter des financements et des partenariats nationaux et internationaux. Le Fonds global de lutte contre le sida, la tuberculose et le paludisme instauré en juillet 2001 à l'initiative du Secrétaire général de l'ONU et d'autres experts de l'ONU, a accordé des financements pour divers programmes de lutte contre le paludisme tels que la vulgarisation des moustiquaires imprégnées grâce à la mise en place de revendeurs dans toutes les régions sensibles, la mise en place des tests de diagnostic rapide ou la surveillance de la chimiosensibilité des parasites aux antipaludiques dans le cadre du Réseau d'Etude de la Résistance (RER). L'adhésion de Madagascar à la Southern Africa Community Development (SADC) va faciliter l'entrée du Programme National de lutte contre le paludisme dans le Southern Africa Malaria Control.

Le tout nous permet d'envisager que le Programme National de Lutte contre le Paludisme de Madagascar avec son équipe multidisciplinaire et bien coordonnée, puisse être capable de «Faire Reculer le Paludisme».

### RÉFÉRENCES

- 1 - BLANCHY S, RAKOTONJANABELO A, RANAIVOSON G *et Coll* - Epidémiologie du Paludisme sur les Hautes Terres malgaches depuis 1878. *Sante* 1993 ; 3 : 155-61.
- 2 - BLANCHY S, RAKOTONJANABELO A, RANAIVOSON G - Surveillance épidémiologique du paludisme instable. L'exemple des Hautes Terres de Madagascar. *Sante* 1993 ; 3 : 247-55.
- 3 - MOUCHET J, CARNAVALE P, COOSEMANS M *et Coll* - Typologie du paludisme en Afrique. *Sante* 1993 ; 3 : 220-38.
- 4 - MOUCHET J, BLANCHY S - Particularités et stratification du paludisme à Madagascar. *Sante* 1995 ; 5 : 386-8.



- 5 - LEPERS JP, DELORON P, ANDRIAMANGATIANA RASON *et Coll* - Clinical impact of *Plasmodium falciparum* malaria in a rural area of the highland Plateaux of Madagascar, WHO/MAL 1989.
- 6 - MOUCHET J, BAUDON D - Mission à Madagascar. Rapport au Ministère de la santé de Madagascar et au Ministère Français de la Coopération, 1989 : 38 p.
- 7 - FONTENILLE D, LEPERS JP, CAMPBELL GH *et Coll* - Malaria transmission and vector biology in Mananintsoa, high plateaux of Madagascar. *Am J Trop Med Hyg* 1990; **43** : 107-15.
- 8 - RAHARIMALALA L, RAMANBANIRINA L, RASON MA *et Coll* - Hétérogénéité de transmission et chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques à Madagascar : une relation à surveiller. *Med Trop* 1995 ; **55 Suppl** : 84-7.
- 9 - RANDRIANTSIMANIRY D - Lutte antipaludique dans l'épidémie des plateaux de Madagascar. *Sante* 1995 ; **5** : 392-6.
- 10 - JAMBOU R, RANAIVO L, RAHARIMALALA L *et Coll* - Malaria in the highlands of Madagascar after five years of indoor house spraying of DDT. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001 ; **95** : 14-8.
- 11 - Direction de la Lutte contre les Maladies Transmissibles / Service de la Lutte contre le Paludisme. Evaluation de l'opération de Pulvérisation Intra-Domiciliaire de DDT (OPID). In : DLMT / SLP. Rapports 1993-1997. Antananarivo : MINSAN, 1998.
- 12 - ALBONICO M, DE GIORGI F, RAZANAKOLONA J *et Coll* - Control of epidemic malaria on the Highlands of Madagascar. *Parasitologia* 1999 ; **41** : 373-6.
- 13 - RALAMBOSON D - Evolution du paludisme à Madagascar et lutte antipaludique. *Ann Univ Madagascar* 1964 ; **2** : 123-33.
- 14 - LEPERS JP, DELORON P, LEPERS-RANSON MD *et Coll* - Chloroquine for treatment of falciparum malaria in Madagascar. *Lancet* 1993 ; **341** : 1163.
- 15 - RANDRIANARIVELOJOSIA M, RAHARIMALALA L, RANDRIAMANANTENA A, JAMBOU R - Chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* sur les régions côtières malgaches. *Med Trop* 2000 ; **60** : 243-9.
- 16 - ARIEY F, RANDRIANARIVELOJOSIA M, DUCHEMIN JB, RAKOTONDRA MARINA D *et Coll* - Mapping of a *Plasmodium falciparum* *pfprt* K76T mutation: a useful strategy for controlling chloroquine resistance in Madagascar. *J Infect Dis* 2002; **185** : 710-12.
- 17 - RANDRIANARIVELOJOSIA M, FIDOCK DA, BELMONTE O *et Coll* - First evidence of *pfprt* mutant *Plasmodium falciparum* in Madagascar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006; **100** : 826-30.
- 18 - BLOLAND PB, ETTLING M, MEEK S. Combination therapy for malaria in Africa: hype or hope? *Bull World Health Organ* 2000 ; **78** : 1378-8.
- 19 - McCOMBIE SC - Treatment seeking for malaria: a review of recent research. *Soc Sci Med* 1996 ; **43** : 933-45.
- 20 - DJIMDE A, PLOWE CV, DIOP S *et Coll* - Use of antimalarial drugs in Mali: policy versus reality. *Am J Trop Med Hyg* 1998 ; **59** : 376-9.
- 21 - TAVROW P, SHABAHANG J, MAKAMA S - Vendor-to-vendor education to improve malaria treatment by private drug outlets in Bungoma district, Kenya. *Malar J* 2003; **2**: 10.
- 22 - WILLIAMS HA, KACHUR SP, NALWAMBA NC *et Coll* - A community perspective on the efficacy of malaria treatment options for children in Lundazi district, Zambia. *Trop Med Int Health* 1999 ; **4** : 641-52.
- 23 - OMS - Rapport sur la consultation technique de l'OMS sur la thérapie antipaludique combinée. Genève 2001.
- 24 - OMS. Rapport sur le paludisme en Afrique en 2003. WHO/CDS/MAL. Genève, 2003 : 120 p.
- 25 - Médecins Sans Frontières. A gir maintenant pour fournir à l'Afrique un traitement antipaludique efficace. Genève, 2003 : 24 p.
- 26 - MEEK SR, DOBERSTYN EB, GAUZERE BA *et Coll* - Treatment of falciparum malaria with quinine and tetracycline or combined mefloquine/sulfadoxine/pyrimethamine on the Thai-Kampuchean border. *Am J Trop Med Hyg* 1986 ; **35** : 246-50.
- 27 - McINTOSH HM, GREENWOOD BM - Chloroquine or amodiaquine combined with sulfadoxine-pyrimethamine as a treatment for uncomplicated malaria—a systematic review. *Ann Trop Med Parasitol* 1998 ; **92** : 265-70.
- 28 - 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.
- 29 - OLIVAR M, DEVELOUX M, CHEGOU ABARI A, LOUTAN L - Presumptive diagnosis of malaria results in a significant risk of mistreatment of children in urban Sahel. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991 ; **85** : 729-30.
- 30 - LUXEMBURGER C, NOSTEN F, KYLE DE *et Coll* - 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.
- 31 - JOHN SM, SUDARSANAM A, SITARAM U *et Coll* - Evaluation of OptiMAL, a dipstick test for the diagnosis of malaria. *Ann Trop Med Parasitol* 1998 ; **92** : 621-2.
- 32 - MAKLER MT, PALMER CJ, AGERAL - A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Ann Trop Med Parasitol* 1998 ; **92** : 419-33.
- 33 - ROGIER C, HENRY MC, SPIEGELA - Diagnostic des accès palustres en zone d'endémie : bases théoriques et implications pratiques. *Med Trop* 2001 ; **61** : 27-46.
- 34 - KILIAN AH, MUGHUSU EB, KABAGAMBE G *et Coll* - Comparison of two rapid HRP-2 based diagnostic tests for *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997 ; **91** : 666-7.
- 35 - GUTHMANN JP, RUIZ A, PRIOTTO G *et Coll* - Validity, reliability and ease of use in the field of five rapid tests for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria in Uganda. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002 ; **96** : 254-7.
- 36 - JONKMAN A, CHIBWE RA, KHOROMANA CO *et Coll* - Cost-saving through microscopy-based versus presumptive diagnosis of malaria in adult outpatients in Malawi. *Bull World Health Organ* 1995 ; **73** : 223-7.
- 37 - SAHONDRA HARISOA LJ, PIETRA V, TOMBO ML *et Coll* - Système de surveillance épidémiologique et d'alerte du paludisme sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar : résultats 1999-2000. *Arch Inst Pasteur de Madagascar* 2001 ; **67** : 21-6.
- 38 - DELACOLLETTE C. Identification of epidemic prone areas and early detection of MALARIA EPIDEMIC. GENEVA : CTD/WHO. 1996.
- 39 - THOMSON MC, CONNOR SJ. Le Paludisme, Systèmes de pré-alerte—Cadre pour la recherche de terrain en Afrique. WHO/CDS/RBM. Genève, 2001: 88 p.
- 40 - RABARIJAONA L, RAKOTOMANANA F, RANAIVO L *et Coll* - Validity of a LQAS to optimize *Plasmodium falciparum* malaria surveys, in low transmission areas. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001 ; **95** : 267-9.
- 41 - JAMBOU R, TOMBO ML, RAHARIMALALA L *et Coll* - Le paludisme à Antananarivo : évaluation d'une situation post-épidémique. *Sante* 1998 ; **8** : 257-64.
- 42 - CARTER R, MENDIS KN, ROBERTS D. Spatial targeting of interventions against malaria. *Bull World Health Organ* 2000 ; **78** : 1401.
- 43 - OMS. Traitement intermittent du paludisme dans le cadre du calendrier du PEV en Afrique. *Rev Epidemiol Hebd* 2002 ; **77** : 82-3.
- 44 - LINES J, HARPHAM T, LEAKE C *et Coll* - Trends, priorities and policy directions in the control of vector-borne diseases in urban environments. *Health Policy Plan* 1994; **9** : 113-29.
- 45 - WARREN M, BENDAHMANE D, WIJEARATNE P. Malaria in Urban and peri-urban areas in Sub-Saharan Africa. Environmental Health Project Activity, Report no. 71. Washington, DC : USAID.
- 46 - ROBERT V, MACINTYRE K, KEATING J *et Coll* - Malaria transmission in urban Sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2003 ; **68** : 169-76.
- 47 - COT S, MATRA R, RABARIJAONA L *et Coll* - Mise en évidence d'une transmission urbaine autochtone du paludisme à Antananarivo, Madagascar. *Med Trop* 2006 ; **66** : 143-8.