

## ACTUALITES DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU PALUDISME

## CURRENT BIOLOGICAL DIAGNOSIS OF MALARIA

E Siala, R Ben Abdallah, A Bouratbine  
K Aoun.

Laboratoire de Parasitologie clinique, Institut Pasteur de Tunis.

**Correspondance :**

Emna SIALA  
Laboratoire de Parasitologie Clinique,  
Institut Pasteur de Tunis.  
13, Place Pasteur, BP 74  
1002 Tunis - TUNISIE  
Tél : 71 801 376- 98 383 568  
Fax : 71 791 833  
E-mail : emna.siala@rns.tn

**Résumé :**

*Le paludisme est une maladie grave potentiellement mortelle en absence d'une prise en charge rapide et appropriée. Son diagnostic est par conséquent, une urgence médicale.*

*Différentes méthodes diagnostiques sont actuellement disponibles. L'examen microscopique d'un frottis sanguin et d'une goutte épaisse demeure la méthode de référence en terme de sensibilité et de spécificité. Il permet de confirmer la maladie, d'identifier l'espèce plasmodiale en cause et d'évaluer la parasitémie, ce qui conditionne à la fois le pronostic et la conduite thérapeutique. Cependant, la fiabilité de cet examen exige une expérience dont ne dispose pas tous les biologistes. Les tests immunologiques récents de diagnostic rapide détectant les antigènes plasmodiaux sont simples, rapides et n'exigent pas de compétences particulières. En revanche, leurs performances sont dépendantes de la parasitémie du sujet infecté. Ces tests doivent donc être considérés complémentaires. L'amplification génique par PCR est actuellement la technique la plus sensible. Néanmoins, c'est une technique longue et onéreuse. Son indication se justifie principalement en cas de difficulté du diagnostic microscopique à cause de pauciparasitémies ou pour l'identification de l'espèce plasmodiale en cause et l'étude des gènes de résistance au traitement.*

**Mots clés :** Paludisme, Plasmodium, frottis sanguin, goutte épaisse, test de diagnostic rapide, PCR.

**Abstract:**

*Malaria is a potentially fatal disease in absence of a fast care. Its diagnosis is a real urgency as far as the forecast depends on the precocity of the treatment. Various diagnostic methods are currently available. The microscopic examination of a thin blood smear and thick blood smear remains the method of reference in term of sensitivity and specificity. It allows the identification of the species involved and the follow-up of the parasitaemia, which are very useful to select the adapted therapy. However, the reliability of this examination requires an experience which does not lay out all the biologists. The rapid diagnostic tests detecting Plasmodium antigens are simple, fast and do not require particular competences. On the other hand, their reliability is dependent on the parasitaemia of the infected subject. These tests must be thus considered as complementary. Genic amplification using PCR is currently the most sensitive technique. Nevertheless, it is a long and expensive technique. It is mainly needed in case of difficulty of the microscopic diagnosis because of low parasitaemia or for the identification of the species and the detection of genes associated to resistance to treatment.*

**Key words:** Malaria, Plasmodium, thin blood smear, thick blood smear, Rapid diagnostic test, PCR.

## INTRODUCTION

Le paludisme ou malaria est la première endémie parasitaire mondiale [1]. C'est une érythrocytopathie fébrile provoquée par des protozoaires du genre *Plasmodium* (P.) et transmise par la piqûre d'un insecte vecteur, l'Anophèle [2]. Quatre espèces sont responsables de la maladie chez l'homme; *P. falciparum* est la plus fréquente et la plus redoutable [3]. Les 3 autres espèces sont *P. ovale*, *P. vivax* et *P. malariae* [3]. Récemment, *P. knowlesi*, espèce proche de *P. malariae* et connue antérieurement chez le singe, a été rapportée chez l'homme en Asie du Sud-Est [4].

Le paludisme a été éliminé en Tunisie en 1979 [5]. Actuellement, 60 cas d'importation environ sont recensés chaque année dans le pays chez des tunisiens ayant voyagé en zones d'endémies ou chez des ressortissants de ces régions [6]. Les manifestations cliniques du paludisme ne sont pas spécifiques et peuvent être atténuées chez un patient présumé ou sous chimioprophylaxie [7, 8]. Elles surviennent habituellement dans les 2 mois suivant la dernière exposition. Cet intervalle peut être plus long chez les personnes qui suivent une chimioprophylaxie [7]. *P. ovale*, *P. vivax* et *P. malariae* peuvent parfois se manifester des mois voir des années après la contamination [9]. Des anomalies biologiques peuvent être notées tel qu'une anémie microcytaire régénérative, une thrombopénie, une hypocholestérolémie, une hypertriglycéridémie ou une hypoalbuminémie [10]. Dans tous les cas, il faut être vigilant car tout accès palustre du sujet non présumé peut évoluer rapidement vers un paludisme grave potentiellement mortel. Par conséquent, toute suspicion de paludisme doit faire demander en urgence une confirmation biologique de la maladie. Le diagnostic permettra également de traiter de manière appropriée les individus parasités et éviter les traitements abusifs [11].

Le diagnostic biologique du paludisme se base encore sur les techniques classiques que sont la goutte épaisse (GE) et le frottis sanguin (FS). Ces examens microscopiques nécessitent un temps de lecture relativement long et un biologiste qualifié. Ces dernières années, de nouvelles techniques ont été développées pour améliorer la recherche du *Plasmodium*; celles qui recherchent les antigènes (Ag) circulants sur bandelettes et la PCR s'affirment comme les plus prometteuses. L'objectif de cette mise au point est de passer en revue les principales techniques actuelles de diagnostic du paludisme, d'en préciser les performances et d'en discuter les avantages et les limites.

## MOYENS DIAGNOSTICS

### Diagnostic microscopique direct par frottis sanguin et goutte épaisse

L'examen microscopique certifie le diagnostic du paludisme en mettant en évidence le parasite dans le sang circulant. Il doit être réalisé avant tout traitement antipaludique et immédiatement sans attendre un pic thermique [11]. Le sang est recueilli par ponction veineuse sur tube contenant un anticoagulant (EDTA) ce qui permet de multiplier les techniques diagnostiques avec le même prélèvement. Les étalements peuvent être réalisés à partir d'un prélèvement capillaire par piqûre au bout du doigt.

L'examen microscopique du FS (Fig. 1) et la GE (Fig. 2) est la technique de référence préconisée par l'OMS (Gold Standard) [12]. Il a une bonne sensibilité et une bonne spécificité pour la

détection du *Plasmodium*. Il permet un diagnostic rapide et un contrôle de l'efficacité du traitement antipaludique par le suivi de la parasitémie [11]. C'est un examen peu coûteux en moyens et en réactifs et demeure la technique la plus utilisée. Cependant, ses performances en terme de sensibilité et de fiabilité dépendent directement de l'expérience du microscopiste et du niveau de la parasitémie du sujet infecté [13].



Fig. 1 : Frottis sanguin coloré au Giemsa



Fig. 2 : Goutte épaisse colorée au Giemsa

Le FS permet également d'identifier l'espèce plasmodiale en cause à partir des critères morphologiques des parasites et des hématies parasitées (Fig. 3) [14]. Ceci est essentiel d'une part pour juger de l'évolution potentielle et de la gravité de la maladie et d'autre part pour instaurer le traitement adéquat. L'infection à *P. falciparum* étant particulièrement recherchée car elle peut donner des complications graves et s'accompagner d'éventuelles résistances au traitement [15]. Par ailleurs, l'identification de *P. ovale* ou *P. vivax* impose un traitement associé pour prévenir les rechutes liées aux hypnozoïtes intrahépatiques de ces espèces [16]. Le FS permet en outre, de calculer la parasitémie, exprimée en pourcentage d'hématies parasitées, très utile en cas d'infection par *P. falciparum*. En

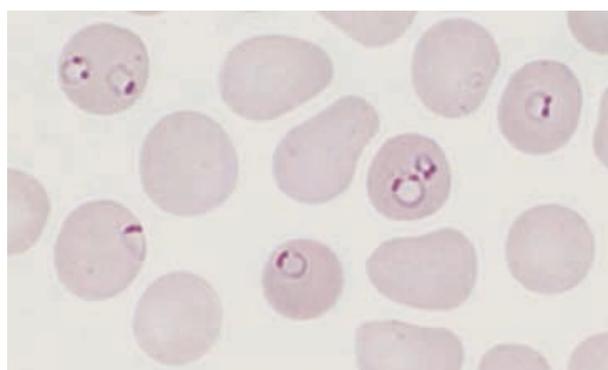


Fig. 3 : Trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* sur un frottis sanguin

effet, l'hyperparasitémie, lorsqu'elle est supérieure ou égale à 4% chez un sujet non immun, est un des indicateurs de la gravité de l'accès palustre [11].

Le seuil de détection du FS est de 100 parasites/µl [14]. Cet examen doit par conséquent, être associé systématiquement à la GE, qui détecte des parasitémies plus faibles de l'ordre de 10 à 20 parasites/µl [17]. En revanche, la GE ne permet pas le diagnostic de certitude des espèces plasmodiales en raison de la lyse des hématies qui réduit les critères morphologiques d'identification.

La GE classique nécessite un certain délai de réalisation du fait du temps nécessaire au séchage puis à l'hémolyse [18]. Quelques variantes comme le séchage au four à micro-ondes ou l'hémolyse à la saponine suivie d'une concentration par centrifugation ont été proposées pour réduire le temps d'exécution [19, 20]. Récemment, une GE rapide avec séchage immédiat à l'étuve à 37°C et lyse des hématies par une solution à base de saponine et de formol, nécessitant seulement 10 minutes de réalisation, a montré une sensibilité équivalente à la technique classique [18].

Malgré sa sensibilité, le diagnostic microscopique du paludisme, peut être pris à défaut dans les formes pauciparasitaires, particulièrement chez les voyageurs sous chimioprophylaxie et éventuellement dans certains cas d'infection par *P. falciparum*, où les parasites sont séquestrés dans les capillaires des organes profonds et donc pas assez présents dans le sang circulant [21]. Il est donc recommandé en cas de forte suspicion clinique avec des examens microscopiques négatifs de répéter le prélèvement sanguin 6 à 12 heures plus tard [11]. Cette attitude ne doit en aucun cas retarder la mise en route d'un traitement spécifique dans un contexte clinique grave [11]. Le diagnostic microscopique peut également se heurter à des difficultés d'identification d'espèce particulièrement en présence de parasites altérés par un traitement préemptif ou en cas de très faibles parasitémies.

#### Détection d'Antigènes palustres par tests de diagnostic rapide (TDR)

Plusieurs tests de ce type sont commercialisés. Ils reposent sur le principe de l'immunochromatographie en utilisant des bandelettes sensibilisées par des anticorps monoclonaux spécifiques détectant des antigènes plasmodiaux [22]. Ils sont réalisés avec une goutte de sang déposée sur une bandelette et ne nécessitent aucun appareillage.

\*Détection de l'Ag histidine rich protein 2 (HRP2) : cette glycoprotéine spécifique de l'espèce *P. falciparum* est produite par tous les stades érythrocytaires asexués du parasite. Plusieurs tests sont disponibles dont le ParaSight (Becton Dickinson, France) et l'ICT Malaria Pf test (Fumouze, France) [22]. Ces tests sont crédités d'une sensibilité supérieure à 96% par rapport aux techniques microscopiques classiques, lorsque la parasitémie évaluée sur la GE est supérieure à 100 parasites/µl [22]. Leurs seuils de détection varient de 100 à 300 parasites/µl [23]. La persistance de l'antigénémie après guérison et la monospécificité vis-à-vis de *P. falciparum* constituent les inconvénients majeurs de ces tests. Des faux positifs ont été également associés à des réactions croisées avec les facteurs rhumatoïdes [24]. Les faux négatifs sont possibles et seraient dus à des mutations du gène codant pour l'HRP2 ou à la présence d'anticorps anti HRP2 [25].

\*Détection des lactates déshydrogénases parasitaires (LDH) : ce sont des enzymes glycolytiques qui présentent l'avantage d'être communes aux 4 espèces plasmodiales, détectées à tous

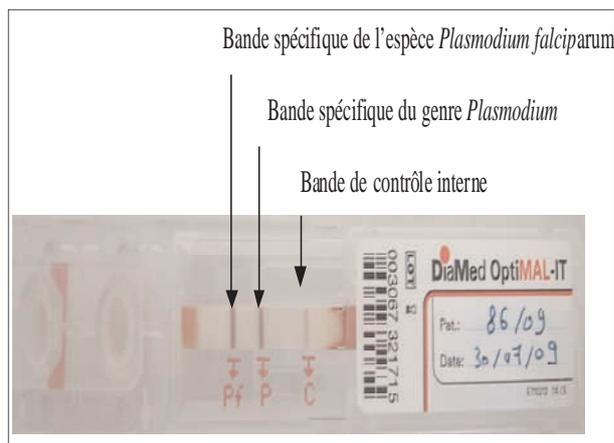


Fig. 4 : Frottis sanguin coloré au Giemsa

les stades sexués et asexués du parasite. Plusieurs tests sont actuellement disponibles comme le test Optimal-It (Diamed, Suisse) (Fig. 4) [22]. Les LDH ont un seuil de détection identique à celui de l'HRP2, leur clairance est par contre plus

rapide faisant qu'ils ne persistent pas dans le sang après disparition du Plasmodium, d'où leur intérêt dans la surveillance des patients traités [26].

Les TDR sont d'exécution rapide et de lecture facile pouvant être réalisés par un personnel moyennement formé. Ils sont indiqués particulièrement dans les structures non spécialisées lorsque l'examen microscopique n'est pas disponible [27]. Leurs performances dépendent essentiellement de la parasitémie [28]. Ils sont également moins performants avec les espèces autres que *P. falciparum*, particulièrement *P. ovale* [29]. Les TDR doivent être considérés comme un complément des autres méthodes diagnostiques. Leurs résultats doivent être vérifiés et complétés si possible par l'examen microscopique. Leur positivité permet une prise en charge adéquate et rapide des patients. En revanche, leur négativité ne doit pas écarter le diagnostic [27].

#### Le QBC Malaria test ou quantitative buffy coat

Le principe de cette technique microscopique de fluorescence repose sur l'utilisation d'un fluorochrome (l'acridine orange) capable de se fixer sur le noyau du parasite. La recherche du Plasmodium se fait dans 50µl de sang recueillis dans un tube à hématocrite, après concentration par centrifugation et lecture au microscope à fluorescence [30].

La sensibilité de cette technique serait comparable à celle de la GE pour des infections supérieures à 100 parasites/µl. Elle varie de 41% à 93% pour des parasitémies inférieures à 100 parasites/µl [31]. La spécificité pour *P. falciparum* est élevée (93-98%) mais chute à environ 50% pour les infections causées par les autres espèces.

Le QBC Malaria test est d'apprentissage facile et de réalisation rapide ; il constitue actuellement le meilleur test de dépistage pour des biologistes non spécialisés et pour les structures traitant un grand nombre de recherche de Plasmodium. Malheureusement, son emploi nécessite un matériel et des réactifs coûteux ce qui limite son utilisation. Il ne permet pas non plus le diagnostic d'espèce et le calcul de la parasitémie [30].

### Détection des acides nucléiques par les techniques d'amplification génique

L'amplification génique par PCR est la technique la plus utilisée. C'est la technique la plus sensible qui permet de détecter de très faibles parasitemies de l'ordre de 0.3 parasite/ $\mu$ l de sang avec une possibilité de quantification de l'ADN plasmodial en utilisant la PCR quantitative [32, 33]. La PCR a également une excellente valeur prédictive négative avec une spécificité absolue si elle est réalisée dans de bonnes conditions [32]. L'amplification du gène codant pour la petite sous unité 18S de l'ARN ribosomal permet aussi l'identification des espèces plasmodiales en cause en utilisant une "Nested" PCR [34].

En dépit de ses avantages, la biologie moléculaire ne peut remplacer en pratique courante les méthodes classiques de diagnostic du paludisme dans la pratique courante en raison du temps de réalisation relativement long, non compatible avec l'urgence du diagnostic du paludisme. La PCR est essentiellement indiquée pour la détection des faibles parasitemies en cas de forte suspicion et de difficulté de confirmation microscopique notamment chez les voyageurs sous chimioprophylaxie [35]. Elle est également d'un apport appréciable dans l'identification des espèces plasmodiales, le suivi post-thérapeutique et l'étude des gènes impliqués dans la résistance aux antipaludiques [36, 37]. Ses exigences en matériel et son coût font qu'elle soit encore réservée aux laboratoires spécialisés.

### Détection des anticorps antipalustres

La sérologie n'a pas de place dans le diagnostic des accès palustres aigus en raison de l'apparition tardive des anticorps (AC) antipalustres par rapport à l'émergence des parasites dans le sang. Le diagnostic sérologique se heurte également à des difficultés d'interprétation. En effet, la présence d'AC spécifiques peut témoigner soit d'une infection palustre évolutive soit d'un paludisme antérieur dans la mesure où les AC peuvent persister 2 à 3 ans après l'infection [38]. Le diagnostic immunologique est indiqué dans certaines formes cliniques chroniques tel le paludisme viscéral évolutif et la splénomégalie palustre hyperimmune au cours desquelles les AC sont à des taux élevés alors que les recherches parasitologiques sont le plus souvent négatives [39]. La sérologie est aussi utile en rétrospectif en cas de traitement présomptif ou d'automédication [11]. Elle reste par ailleurs, très utilisée dans le dépistage des donneurs de sang dans le cadre de la prévention du paludisme post-transfusionnel et dans les enquêtes épidémiologiques [38].

### CONCLUSION

Le diagnostic du paludisme est essentiellement parasitologique. Le rôle du biologiste est capital car un résultat faussement négatif peut faire courir un risque vital au patient en retardant le traitement d'une pathologie grave. Un diagnostic rapide et fiable du paludisme est par conséquent, une nécessité impérative pour tous les laboratoires d'analyses médicales. L'identification des espèces est primordiale du point de vue thérapeutique et pronostique en raison principalement des résistances associées à *P. falciparum* et des complications graves qu'il peut entraîner.

Au vu des avantages et limites des différentes techniques disponibles, l'examen microscopique du FS et de la GE reste la

technique de référence à pratiquer en première intention. Il permet d'obtenir un diagnostic de certitude dans des délais compatibles avec l'urgence représentée par la maladie. Les tests antigéniques, récemment développés, représentent un appoint intéressant à la démarche diagnostique particulièrement pour les laboratoires non spécialisés. Ils ne peuvent cependant, en aucun cas se substituer aux techniques microscopiques classiques. Le QBC est une technique simple, fiable et rapide mais présente l'inconvénient d'être exigeante en matériel. La PCR est d'un grand apport surtout en cas de difficultés de confirmation microscopique liées à de faibles parasitemies. Elle permet également l'identification des espèces en cause et la détection des gènes de résistance aux antipaludiques.

### Références

1. Cuzin L, Delpierre C. Épidémiologie des maladies infectieuses. Encyc Med Chir - Maladies Infectieuses, 2005 ; 2 : 157-62.
2. Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V. Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. Méd Mal Infect 2007 ; 37 : 153-61.
3. Bruneel F. Paludisme grave. Encyc Med Chir Anesthésie-réanimation, 2009 ; [36-984-B-10].
4. Lee K S, Cox-Singh J, Brooke G, Matusop A, Singh B. Plasmodium knowlesi from archival blood films: Further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. Intern J Parasitol 2009 ; 39 : 1125-8.
5. Chedli A, Kennou M.F, Kooli J. Les campagnes d'éradication du paludisme en Tunisie : historique et situation actuelle. Arch Inst Pasteur Tunis 1986 ; 63 : 35-50.
6. Rapports annuels de la Direction des Soins de Santé de Base. Ministère de la santé publique 1997 - 2008.
7. Danis M, Legros F, Gay F, Brousse G, Bricaire F, Gentilini M. Paludisme d'importation en France. Méd Mal Infect 1999 ; 29 : 257-63.
8. Le Bras M, Mazaudier E, Receveur M C, Schmitt De La Brelie N, Becquart J Ph, Longy-Boursier M. Épidémiologie et clinique des maladies tropicales d'importation. Rev Méd Interne 1992 ; 13 : S95.
9. Siala E, Khalfaoui M, Bouratbine A, Hamdi S, Hili K, Aoun K. Paludisme à Plasmodium malariae, une rechute 20 ans après un séjour en zone impaludée. Presse Méd 2005 ; 34 : 371-2.
10. Chagnon A. Contribution de certaines anomalies biologiques au diagnostic du paludisme. Méd Mal Infect 1999 ; 29 : 302-6.
11. Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF). Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à Plasmodium falciparum recommandations pour la pratique clinique (Revision 2007 of the 1999 Consensus conference). Réanimation 2008 ; 17 : 1-54.
12. World Health Organization, Severe falciparum malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 2000 ; 94 : 1-90.
13. Makler M, Palmer C J, Ager A I - A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. Ann Trop Med Parasitol 1998 ; 92 : 419-33.
14. De Gentile L, Geneviève F. Le paludisme d'importation : diagnostic au laboratoire. Rev Fr Lab 2000 ; 321 : 25-9.
15. Dorsey G, Gandhi M, Oyugi J, Rosenthal P. Difficulties in the prevention, diagnosis, and treatment of imported malaria. Arch Intern Med 2000 ; 160 : 2505-10.
16. Oliver M, Simon F, De Monbrison F et al. Le nouvel âge de la primaquine contre le paludisme. Méd Mal Infect 2008 ; 38 : 169-79.
17. Delaunay P, Estran-Pomares C, Marty P. Diagnostic du paludisme : frottis sanguin, goutte épaisse et tests antigéniques. Méd Mal Infect 2008 ; 38 : 121-3.
18. Thellier M, Detry A, Alfa Cisse O, San C, Biligui S, Silvie O, Danis M. Diagnosis

- of malaria using thick bloodsmears: definition and evaluation of a faster protocol with improved readability. *Ann Trop Med Parasitol* 2002 ; 96 :115-24.
19. Chevalier B, Cavallo J D, Baudet J M et al. Diagnostic rapide du paludisme. Le four à micro-ondes. *Bull Soc Path Exo* 1992 ; 85 : 223-5.
  20. Petithory J C, Ardoin F, Ash L R et al. Microscopic diagnosis of blood parasites following a cytoconcentration technique. *Am J Trop Med Hyg* 1997 ; 57 : 78-83.
  21. Brenier-Pinchartm M P, Pinel C, Grillot R, Ambroise-Thomas P. Le diagnostic du paludisme dans les régions non endémiques : valeur, limites et complémentarité des méthodes actuelles. *Ann Biol Clin* 2000 ; 58 : 310-6.
  22. Colin L, Mallié M, Bastide J M. Diagnostic rapide du paludisme par la recherche d'antigènes circulants. *Rev Fr Lab* 2000 ; 319 : 59-64.
  23. Cavallo J D, Hernandez E, Gerome P, Plotton N, Debord T, Le Vagueresse R. Antigénémie HRPII et paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* : comparaison de ParaSight-F et de l'ICT Malaria Pf. *Med Trop* 1997 ; 57 : 353-6.
  24. Grobusch M P, Alpermann U, Schwenke S, Jelinek T and Warhurst D C. False-positive rapid test for malaria in patients with rheumoid factor. *Lancet* 1999 ; 353 : 297.
  25. Lee N, Baker J, Andrews KT et al. Effect of sequence variation in *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2 on binding of specific monoclonal antibodies: implications for rapid diagnostic tests for malaria. *J Clin Microbiol* 2006 ; 44 : 2773-8.
  26. Minodier P, Noël G, Blanc P, Retormaz K, Garnier J M. Tests rapides de dépistage du paludisme. *Arch Pediatr* 2005 ; 12 : 697-9.
  27. Hance P, Garnotel E, De Pina JJ et al. Tests immunochromatographiques rapides de détection du paludisme, principes et stratégies d'utilisation. *Med Trop* 2005 ; 65 : 389-93.
  28. Minodier P. Dépistage du paludisme : tests rapides. *J Pédiatr Puériculture* 2005 ; 18 : 386-8.
  29. Grobusch M P, Hanscheid T, Zoller T, Jelinek T and Burchard G D. Rapid immunochromatographic malaria antigen detection unreliable for detecting *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002 ; 21 : 818-20.
  30. Lecamus JL, Raphenon G. Diagnosis of malaria in the field by fluorescence microscopy using QBC capillary tubes. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992 ; 86 : 460.
  31. Adeoye G O, Nga I C. Comparison of Quantitative Buffy Coat technique (QBC) with Giemsa-stained thick film (GTF) for diagnosis of malaria. *Parasitol Int* 2007 ; 56 : 308-312.
  32. Hänscheid T, Grobusch MP. How useful is PCR in the diagnosis of malaria? *Trends in Parasitology* 2002 ; 18 : 395-8.
  33. De Monbrison F, Angei C, Staal A, Kaiser K and Picot S. Simultaneous identification of the four human *Plasmodium* species and quantification of *Plasmodium* DNA load in human blood by real-time polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003 ; 97 : 387-90.
  34. Kimura M, Kaneko O, Liu Q et al. Identification of the four species of human malaria parasites by nested PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene. *Parasitol Int* 1997 ; 46 : 91-5.
  35. Ciceron L, Jaureguiberry G, Gay F, Danis M. Development of a *Plasmodium* PCR for monitoring efficacy of antimalarial treatment. *J Clin Microbiol* 1999 ; 37 : 35-8.
  36. De Monbrison F, Raynaud D, Latour-Fondanaiche C et al. Détection des marqueurs moléculaires de la résistance de *Plasmodium falciparum* par PCR en temps réel. *Pathol Biol* 2003 ; 51 : 528-33.
  37. Candolfi E. Le paludisme transfusionnel, les mesures de prévention. *Transfus Clin Biol* 2005 ; 12 : 107-13.
  38. B. Camara, Kantambadouno J B, Martin-Blondel G et al. Splénomégalie palustre hyperimmune : à propos de trois cas cliniques et revue de la littérature. *Méd Mal Infect* 2009 ; 39 : 29-35.