

UNIVERSITE DU MALI
Direction de l'Enseignement Supérieur

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année : 2001

Thèse n°.....7.....

TITRE :

**ETUDE DE LA SPOROGENIE ET DE LA TRANSMISSION
NATURELLE DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* CHEZ LES
MEMBRES DU COMPLEXE *ANOPHELES GAMBIAE* A
BANCOUMANA, MALI**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Mr Zoumana Fané

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (DIPLOME D'ETAT)

JURY

Président:	Prof. Amadou DIALLO
Membres:	Dr. Abdrahamane S. MAIGA
	Dr. KAMISSOKO Fanta TRAORE
	Dr. Sékou F. TRAORE
Co-directeur :	Dr. Abdoulaye M TOURE
Directeur :	Prof. Yéya T TOURE

Ce travail a été financé dans le cadre du projet intitulé « Malaria Epidemiology and Entomology in Mali » NIH-TMRC 1 P50 A13949 et exécuté par le MRTC/DEAP/FMPOS

**LISTE
ACADEMIQUE
2000-2001**

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE

.....
ANNEE UNIVERSITAIRE 2001-2002

ADMINISTRATION

DOYEN: **MOUSSA TRAORE** –PROFESSEUR

1er ASSESSEUR: **AROUNA KEITA** –MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

2eme ASSESSEUR : **ALHOUSSEYNI AG MOHAMED** MAITRE DE CONFERENCE AGREGE
SECRETAIRE PRINCIPAL : **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** MAITRE DE CONFERENCE
AGREGE

AGENT COMPTABLE : **YEHIHA HIMINE MAIGA** CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie-Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Aliou Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R & GRADE

D.E.R CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1.PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie-Traumatologie, Chef de D.E.R
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseyni Ag MOHAMED	O.R.L
Mr Abdoulaye DIALLO	Ansthésie-Réanimation

Mr Gangaly DIALLO

Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïssata SOW

Gynéco-Obstétrique

Mr Salif DIAKITE

Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE

Gynéco-Obstétrique

Mr Mamadou TRAORE

Gynéco-Obstétrique

Mr Sadio YENA

Chirurgie Générale

Mr Filifing SISSOKO

Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Abdoulaye DIALLO

Ophtalmologie

Mr Mamadou L. DIOMBANA

Stomatologie

Mr Sékou SIDIBE

Orthopédie-Traumatologie

Mr Abdoulaye DIALLO

Anesthésie-Réanimation

Mr Tiéman COULIBALY

Orthopédie-Traumatologie

Mme TRAORE J. THOMAS

Ophtalmologie

Mr Nouhoum ONGOIBA

Anatomie & Chirurgie Générale

Mr Zanafon OUATTARA

Urologie

Mr Zimogo Zié SANOGO

Chirurgie Générale

Mr Adama SANGARE

Orthopédie-Traumatologie

Mr Youssouf COULIBALY

Anesthésie-Réanimation

Mr Samba Karim TIMBO

O.R.L.

Mme TOGOLA Fanta KONIPO

O.R.L.

Mr Sanoussi BAMANI

Ophtalmologie

Mr Doulaye SACKO

Ophtalmologie

Mr Issa DIARRA

Gynéco-Obstétrique

Mr Ibrahim ALWATA

Orthopédie-Traumatologie

D.E.R DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO

Chimie Générale & Minérale

Mr Bréhima KOUMARE

Bactériologie-Virologie

Mr Siné BAYO

Anatomie-Pathologie-Histoembryologie

Mr Gaoussou KANOUTE

Chimie analytique

Mr Yéya Y. TOURE

Biologie

Mr Amadou DIALLO

Biologie, **Chef de D.E.R**

Mr Moussa HARAMA

Chimie Organique

Mr Ogobara DOUMBO

Parasitologie-Mycologie

2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie

3.MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M.CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S.MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M.TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie,Biologie Animale
MrAbdrahamabe TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I.MAIGA	Bactériologie-Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

5.ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A.THERA	Parasitologie

D.E.R DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1.PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interene
Mr Mamadou K.TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, Chef de D.E.R
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
MrMamadou M.KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar A.TRAORE	Médecine interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie

2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Boubakar DIALLO	Cardiologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Moussa Y.MAIGA	Gastro-Entérologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE	Médecine interne
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mr Diankiné KAYENTAO	Pneumo-phtisiologie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Adama D.KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-Entérologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Mamadou B.CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie

5.ASSISTANTS

Mr Cheich Oumar GUINTO	Neurologie
------------------------	------------

D.E.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1.PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
--------------------------	-------------

2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA	Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique

Mr Flabou BOUGOUDOGO Bactériologie-Virologie

3.MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA Législation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie, **Chef de D.E.R**
Mr Massa SANOGO Chimie analytique

4.MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matières Médicales
Mr Alou KEITA Galénique
Mr Ababacar I.MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique

D.E.R DE SANTE PUBLIQUE

1.PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, **Chef de D.E.R**

2.MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Moussa A.MAIGA Santé Publique

3.MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yanick JAFFRE Anthropologie
Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE Santé Publique
Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA Botanique
Mr Bouba DIARRA Bactériologie
Mr Salikou SANOGO Physique
Mr Bokary Y.SACKO Biochimie
Mr Sikidi DIABATE Bibliographie
Mr Boubacar KANTE Galénique
Mr Souleymane GUINDO Gestion

Mme DEMBELE Sira DIARRA
Mr Modibo DIARRA
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA
Mr Arouna COULIBALY
Mr Mamadou Bocary DIARRA
MrMahamadou TRAORE
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Yaya COULIBALY
Mr Saibou MAIGA

Mathématiques
Nutrition
Hygiène du Milieu
Mathématiques
Cardiologie
Génétique
Psychologie Médicale
Législation
Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr A.E. YAPO
Pr M.L.SOW
Pr Doudou BA
Pr M.BADIANE
Pr Babacar FAYE
Pr Eric PICHARD
Pr Mounirou CISS
Dr G.FARNARIER
Pr Amadou Papa DIOP

BIOCHIMIE
MED.LEGALE
BROMATOLOGIE
PHARMACIE CHIMIQUE
PHARMACODYNAMIE
PATHOLOGIE INFECTIEUSE
HYDROLOGIE
PHYSIOLOGIE
BIOCHIMIE

DEDICACES

DEDICACES

Je dedie ce modeste travail

A tous ceux qui dans le monde entier luttent contre le paludisme

A toutes les populations rurales du tiers monde qui comme celle du Mali luttent de toutes leurs forces pour l'amélioration de leur sort.

A NOTRE REGRETTE PERE, OUMAR FANE

Grâce à l'éducation rigoureuse que tu nous as donnée, avant de nous quitter, nous avons très tôt appris à discerner le bien du mal et à aiguïser notre sens de responsabilité.

Homme rigoureux et très démocrate tu resteras pour nous le modèle, admirable de courage de persévérance et de conscience professionnelle.

Puisse ce travail, te faire plaisir dans ta dernière demeure.

Qu'Allah t'accorde sa grace, Amen

A NOTRE MERE, FATOUMATA KOROMA

Vous m'avez enseigné le respect de son semblable, le courage, la dignité.

Ce modeste travail ne suffit certes pas à apaiser le profond chagrin qui mine vos jours et nuits sans sommeil.

Puisse-t-il ce pendant vous apporter la preuve que ces 20 ans d'études ont été pour votre fils, une expérience enrichissante. Trouvez-y un motif de consolation.

Que le tout puissant vous accorde encore longue vie au près de nous.

A NOS ONCLES, BAKARY, SEYDOU, MOCTAR, LASSINA

Vous avez fait de moi votre fils. Vous avez partagé avec moi et ma famille toutes les émotions de ma vie scolaire. Ce travail est le votre.

A MES TANTES: BINTOU, KOROTOUMOU, KADIA

Ce modeste travail ne suffit certes pas à apaiser le profond chagrin qui mine vos jours et peuple vos nuits sans sommeil.

Puisse-t-il cependant vous apporter la preuve que ces 20 ans d'études ont été pour votre fils, une expérience enrichissante. Trouvez-Y un motif de consolation.

A NOTRE REGRETTE ONCLE ET HOMMONIME, SOUMANA KOROMA

En souvenir de mon enfance à tes côtés
De ton souci de faire de moi un homme équilibré dans la vie
Que ton âme repose en paix.

A TOUS MES FRERES

Vous m'avez épargné des travaux champêtres avec votre esprit solidaire. Votre admirations pour moi m'a toujours exhorté a plus de persévérance afin de vous donner un bon exemple. Je vous souhaite bon courage et plein de success dans la vie.

A NOTRE GRAND FRERE ET MAÎTRE: BILA FANE

En dehors de ta qualité d'éducateur en famille, vous m'avez reçu à l'école comme élève au fondamental. Ton sens pour l'éducation de tes frères, ta détermination, ton attention fait de toi un grand frère exemplaire. Trouves en ce travail une introduction du resultat des efforts et de les sacrifices que tu as pu consentir pour moi. Ce travail est le tien.

A NOS REGRETTEES SŒURS : Djeneba et Oumou FANE

Vous avez fait de moi votre frère. Vous avez partagé avec moi toutes les emotions de ma vie scolaire. Nous nous rappellons encore de vos larmes la première fois que je partais de Niono pour Markala afin de commencer mes études secondaires.
Nous regrettons de n'avoir pas pu vous servir à la fin ces études.
Dormez en paix chères Sœurs, qu'Allah vous accorde sa grace. Amen !

A MA FIANCEE : Djeneba CISSOKO

Ce travail est aussi le tien. Sa réalisation nous a demandé des sacrifices.
Aussi, pour tes conseils, ton soutien moral et tes encouragements, trouves ici, l'expression de mon profond et indefectible amour.

A mon ami Amadou Sy DIOP

Mes sincères reconnaissances pour ton bon sens de l'amitié.

A mon camarade et aîné Simon Coulibaly

A tous mes camarades de promotion de l'école fondamentale, du lycée et de la faculté.

A tous mes voisins du village du Point G

A mes logeurs des enseignements secondaires et supérieurs.

A tous les membres de l'Amical des Étudiants en Pharmacie (A E P)

Mr Konipo, Mr Bouaré Mr Diarra, Mlle Sissoko.....

A tous les membres de l'Association des Étudiants Nionois en Santé (l'ENSA)

A la famille Diop à Magnambougou

A la famille Sangaré au Banconi.

A ma belle famille Cissoko à Nara

A la famille Sinè Soumaré à Nara

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont:

-A DIEU LE TOUT PUISSANT

Seul vous, pouvez nous guider dans le bon chemin, nous aider dans nos épreuves quotidiennes.

-Aux chercheurs du MRTC (DEAP)

Bakary Sissoko le doyen, Dr Madama Bouaré, Dr. Sékou F. Traoré, Dr. Guimogo Dolo, Mr Nafomon Sogoba, Dr Magaran Bagayoko, Dr Djibril Sangaré, Mr Adama Dao, Mme Oumou Niaré Mohamed Fofana, Alpha Seydou Yaro et mon encadreur Dr Abdoulaye Touré.

Chacun de vous a donné le maximum de lui pour m'aider chaque fois que j'étais en nécessité. Les mots me manquent pour vous remercier de votre disponibilité.

-A mes camarades diplômés de l'ENSUP au laboratoire MRTC

Moussa Keita, Ibrahim M Sissoko. Bonne chance et du courage pour votre vie professionnelle.

-A mes camarades de promotion et thésards au laboratoire MRTC

Brehima Bagayoko, Yaya Ibrahim Coulibaly, Mohamed B Touré
Bonne chance et du courage pour vos thèses de fin d'études.

Aux techniciens de l'insectarium

Boubacar Coulibaly, Moussa Diallo, Adama Sacko, Abdramane Fofana.

Vous avez toujours répondu présent et avec enthousiasme quand j'avais besoin de vous. Vous m'avez gratifié tant de respect. C'est le lieu de vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous souhaite une bonne carrière professionnelle.

Aux manoeuvres de Labo MRTC

Bemba Diarra et Abdoulaye Coulibaly

A nos guides de Bancoumana

Yacouba Camara, Mahamadou Traoré, Sina Camara, Balla Koné, Bakary Camara

A Dr Richard Sakai

Cette thèse a été facilitée par votre appui technique en collaboration avec: LPD/NIH (Dr. Robert W. Gwadz, Dr. Louis Miller)

Votre bienveillance sur le bon déroulement des travaux et sur le personnel fait de vous un modèle. Cher grand-père vous avez tous mes remerciements.

A l'administrateur du MRTC

Souleymane Karembé

A tout le personnel du laboratoire TMRC du DEAP

Au Professeur Ogobara Doumbo

Dr Abdoulaye Dabo, Dr Amagana Dolo, Dr Mamadou Théra , Dr. Mamadou Diakité, Dr. Belco Poudiougou, Mr Moctar Diallo, Dr Ahmed Ouatarra, Dr. Lalla Kassambara, Ousmane Touré, Dr. Alassane Dicko, Dr. Sory Diawara, Dr. Moussa Sogoba Dr. Moussa Konaré Dr Balla Niambélé Dr Drissa Coulibaly Dr. Kodio Dr. Maiga , Sékou Touré.

A mes camarades de promotion du DEAP

Issa Diarra, Modibo Daou, Modibo Teketé, Dr Fatoumata Niangaly, Abdoulaye Traoré.

A mes cadets du DEAP

Moussa Fofana, Mr Keita, Mr Mounkoro, Mlle Fatou Diarassouba,

Aux chauffeurs du DEAP

Mamadou Diarra, Kaiselem Djiguiba, Youssouf Diarra, Ali Djiguiba, Gaoussou Camara, Abdoulaye Koné, Moumouni Diallo, Mamadou Keita, Samba Sidibé, Habinem Doumbo. Yoro Sidibé, Moro Diakité, Moussa Niaré.

Merci pour votre disponibilité.

A toute la population de Bancoumana pour sa collaboration

A tout ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce travail.

AUX MEMBRES DU JURY

A Notre maître et président du jury

Professeur Amadou DIALLO

Chargé de cours de Biologie animale et de Zoologie à la FMPOS

Chef de DER des sciences fondamentales.

Cher maître vous nous faites l'honneur de présider ce jury malgré vos multiples préoccupations.

Nous avons eu le privilège de bénéficier de votre assistance pour l'amélioration de la qualité de ce document. Votre simplicité et vos qualités humaines font de vous un maître idéal.

C'est le lieu pour moi, Cher maître de témoigner toute ma gratitude et toute ma reconnaissance.

À Notre maître et juge

Docteur Abdrahamane Sidey MAIGA

Maître de conférence à la FMPOS

Chargé de cours de Parasitologie et de Mycologie à la FMPOS

Chef de service de Parasitologie à l'INRSP

Cher maître vous nous faites honneur de siéger dans ce jury.

Nous avons été très vite séduits par l'intérêt que vous accordez à notre formation

Vos critiques et suggestions ont été d'un apport considérable dans l'élaboration de ce document.

Soyez assuré cher maître de notre sincère reconnaissance.

A Notre maître et juge

Docteur **Fanta TRAORE**

Pharmacienne de son Etat,

Ph.D en Maladies transmissibles et Pathologies Tropicales.

Nous sommes très honorés par votre présence dans ce jury.

Cher maître nous avons bénéficié de votre entière disponibilité pour l'amélioration de la qualité de ce document.

Votre simplicité et vos qualités humaines font de vous un maître idéal,

C'est le lieu pour moi de témoigner toute ma gratitude.

A Notre maître et Directeur de thèse de thèse

Docteur **Sékou Fantamady TRAORE**

Docteur en Entomologie médicale,

Chargé de cours de Biologie cellulaire et de Genetique à la FMPOS.

Chef de section Entomologie du Malaria Research and Training Center (MRTC)

Cher Directeur de thèse, il me manque des mots pour vous remercier des efforts que vous avez déployés pour que ce travail puisse se concrétiser.

Votre expérience du terrain et votre qualité humaine et sociale, font la qualité de votre recherche.

Trouvez donc ici l'expression de notre profonde admiration.

ABREVIATIONS

-**DEAP**= Département d'Epidemiologie des affections parasitaires

-**ELISA**= Enzym Linked Immuno-Sorbent Assay

-**PBS**= Phosphate Buffer Saline

-**n, nb** = Nombre

-**MRTC**= Malaria Research and Training Center (centre de recherche et de formation sur le paludisme).

Std = Standar de deviation

HOBO= intrument de mesure de temperature et de l'humidité

ABTS= diéthylène benzothiazoline sulphonate à chaque puit

Les paramètres mesurés:

1- Paramètres de la sporogonie

-Macrogamète: Il correspond au premier stade de développement du parasite (*Plasmodium falciparum*) au niveau de l'estomac de Anophèle femelle. Il met 3 h de temps pour évoluer au stade suivant après que le moustique ait pris son repas sanguin sur un sujet porteur de gamétocytes. La technique microscopique utilise les femelles fraîchement gorgés pour sa détection.

-Ookinète: Il correspond au deuxième stade de développement du parasite après le zygote au niveau de l'estomac du moustique. Il est détectable chez les moustiques semi gravides par la technique microscopique 24 h après que la femelle ait pris son repas sanguin sur une personne porteur de gamétocytes.

-Oocyste: Il correspond au troisième stade de développement du parasite après l'ookinète au niveau de l'estomac du moustique. Il est détectable chez les moustiques gravides dans les conditions expérimentales par la technique microscopique à l'objectif 10 par contre il est détecté chez les moustiques à jeûns dans les conditions expérimentales par la même technique microscopique.

2- Paramètres de la transmission.

-Densité de moustiques par case: C'est le nombre moyen de moustiques par case. Elle est égale au nombre total de moustiques capturés dans n cases divisé par le nombre n de cases prospectées.

-Agressivité (ma): C'est le nombre de piqûres reçues par homme et par nuit. Elle se calcule de deux manières:

. En captures de nuit: $ma = \frac{\text{Nombre total de moustiques capturés}}{\text{Nombre de captureurs} \times \text{nombre de seances de capture}}$

. Au spray catch: Nombre de femelles gorgées la veille dans une chambre (gorgées et semi-gravides) divisé par le nombre de personnes ayant dormi dans la case.

Coefficient d'exophagie: C'est le rapport: Nombre de moustiques capturés à l'extérieur / Nombre de moustiques capturés à l'intérieur des habitations humaines.

Taux de Parité (TP) : C'est le pourcentage de femelles pares sur l'ensemble des femelles disséquées.

Ces taux sont établis à partir des femelles à jeûn en utilisant la méthode de Déтина.

Taux d'infection:

C'est le pourcentage de femelles porteuses de sporozoïtes dans leurs glandes salivaires (IS) ou d'antigène circum sporozoïtique (CSP) dans la portion tête-thorax (IAS).

Taux d'inoculation entomologique (h):

Il correspond au nombre de piqûres infectantes par homme et par nuit. $H = ma \cdot Is$ (formule de Mac-Donald, 1956); où ma est l'agressivité, et l' Is est l'indice sporozoïtique.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	1
2. GENERALITES	5
2-1 Rappels sur le cycle du parasite et la transmission du paludisme	
2.1.1 Schizogonie ou multiplication asexuée chez l'homme.....	
2.1.2 Sporogonie ou cycle sexué chez l'anophèle femelle.....	
2.2 Biologie du parasite.....	6
2.2.1 Relations hôte-parasite.....	
3-METHODOLOGIE	9
3.1 LIEU D'ETUDE	9
3.1.1 Position géographique	
3.1.2 Historique	12
3.1.3 Climat et végétation.....	
3.1.4 Relief et Hydrographie.....	13
3.1.5 Démographie	
3.1.6 Economie	
3.1.7 Organisation administrative	
3.1.8 Infrastructures	14
3.1.9 Justification du choix de Bancourmana	
3.2 PERIODE D'ETUDE	15
3.3 SPOROGONIE DANS LES CONDITIONS NATURELLES	15
3.3.1 Type d'étude	
3.3.2 Technique d'échantillonnage	
3.3.3.Capture pour la détermination du taux d'infection pour macrogamète	15
3.3.4 Capture pour la détermination du taux d'infection pour ookinète.....	19
3.3.5 Capture pour la détermination du taux d'infection pour oocyste	21

3.3.6 Détermination du taux d'infection pour sporozoïtes	22
3.3.6.1 Traitement des échantillons.....	23
3.3.6.1.1 La technique d'immunodiagnostic ELISA	
3.4 Etude de la transmission de <i>Plasmodium falciparum</i>	25
3.4.1 Technique d'échantillonnage	
3.4.1.1 Captures de nuit (CN) Cf sporogonie naturelle 3.2.3.3	
3.4.1.2 Captures du jour « Spray-catch »	
3.4.2 Détermination des paramètres	26
3.4.2.1 Identification des membres du complexe <i>Anopheles gambiae</i>	
3.4.2.2 La densité.....	29
3.4.2.3 l'agressivité.....	
3.4.2.4 La parité.....	
3.4.2.5 Le taux d'inoculation entomologique.....	
3.5 SPOROGONIE DANS LES CONDITIONS EXPERIMENTALES	30
3.5.1 Technique d'échantillonnage (moustiques d'élevage)	
3.5.1.1 Elevage des moustiques	
3.5.2 Déroulement pratique du travail	31
3.5.2.1 Sur Terrain.....	
3.5.2.1.1 Sensibilisation de la population de Bancoumana	
3.5.2.1.2 Sélection des familles	
3.5.2.1.3 Organisation.....	
3.5.2.1.4 Dépistage.....	
3.5.2.2 Au Laboratoire	32
3.5.2.2.1 Principe de l'infection expérimentale directe	
3.5.2.2.2 Détermination des paramètres étudiés.....	33
3.6 EVALUATION DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX ET LEUR INFLUENCE SUR LA SPOROGONIE	34
3.6.1 Evaluation	
3.6.2 Influence des facteurs environnementaux sur la sporogonie (Cf Résultats)..	35
 4. RESULTATS	 36

4.1 Sporogonie naturelle:	36
4.1.1 Taux d'infection en macrogamètes	
4.1.2 Taux d'infection en ookinètes	38
4.1.3 Taux d'infection en oocyste	41
4.1.4 Taux d'infection pour Sporozoite	43
4.2 Etude de la transmission	46
4.2.1 Composition vectorielle	47
4.2.2 Densité	48
4.2.3 Agressivité	51
4.2.4 Parité	53
4.2.5 Taux d'inoculation entomologique	55
4.3 Sporogonie Expérimentale	60
4.3.1 Paramètres parasitologiques	
4.3.2 Taux d'infection pour macrogamète	61
4.3.3 Taux d'infection pour ookinète	63
4.3.4 Taux d'infection pour oocyste	65
4.4 EVALUATION DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX ET DE LEUR INFLUENCE SUR LA SPOROGONIE	67
4.4.1 Evaluation des facteurs environnementaux	67
4.4.2 Influence des facteurs environnementaux sur la sporogonie	68
5.COMMENTAIRESDISCUSSION	72
6. CONCLUSION	78
BIBLIOGRAPHIE	81
RESUME	
SUMMARY	
ANNEXES	

1. INTRODUCTION

1. INTRODUCTION:

Maladie parasitaire la plus répandue dans le monde, le paludisme (malaria) ou fièvre du mauvais air sévit encore à l'état endémique dans une grande partie du monde. Cette parasitose a été découverte depuis plus de 100 ans, et pose encore un véritable problème de santé publique. Sur une population mondiale d'environ 5,4 milliards d'habitants, 2,2 milliards sont exposés à des infections paludéennes dans 90 pays ou territoires (OMS 1992). Selon les estimations les plus récentes, il y aurait 300 à 500 millions de cas cliniques chaque année (OMS, 1992). En outre, le paludisme provoque chaque année un nombre de décès estimé entre 1,4 et 2,6 millions. Les femmes enceintes, les nourrissons, et les jeunes enfants constituent les couches les plus vulnérables, et un enfant sur vingt meurt de paludisme avant l'âge de 5 ans (OMS, 1992).

En Afrique, la maladie est responsable de 90% des cas cliniques (OMS, 1992). Au Mali au moins 15 à 20% des consultations en médecine interne sont dues à cette maladie (Haidara, 1989). Malgré les mesures de protection individuelles et collectives et le traitement systématique des cas adopté par les différents programmes de lutte contre le paludisme, les taux de morbidité et de mortalité demeurent généralement élevés au Mali et sont respectivement de 14% et de 15% (Diani, 1985).

L'aggravation de la situation du paludisme dans de nombreuses régions du monde, a conduit l'Assemblée Mondiale de la Santé à adopter la résolution W.H.A.42.30 (1989) qui a fait de la lutte antipaludique une priorité mondiale.

La maladie est transmise à l'homme par un moustique du genre *Anophèles*. Sur les 400 espèces d'anophèles répandues dans le monde, seulement une soixantaine d'entre elles sont des vecteurs du paludisme. Une vingtaine, sont à l'origine de la plupart des cas.

En Afrique de l'Ouest et singulièrement au Mali *Anopheles gambiae* s.l. et *Anopheles funestus* sont les principaux vecteurs du paludisme. *An. gambiae* est un complexe d'espèces composé d'*An. gambiae* s.s et d'*An. arabiensis*.

Les analyses cytotaxonomiques d'*An. gambiae* s.s. ont démontré l'existence de plusieurs cytotypes qui diffèrent par leur comportement et par le milieu auquel ils s'adaptent.

An. gambiae s.s. et *An. arabiensis* vivent en condition sympatrique, le premier occupe les régions de forêt mais remonte loin en savane et le second est présent au Sahel et sur les plateaux d'Afrique méridionale. Les travaux antérieurs menés par Davidson (1967) et ceux de Coz (1973) utilisant la méthode des croisements et l'étude des inversions chromosomiques ont permis de différencier *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis*.

Au Mali l'étude du polymorphisme chromosomique réalisée par Touré et al. (1982) a montré l'existence de quatre populations différentes au sein du complexe *An. gambiae*: *An. arabiensis* et trois formes chromosomiques d'*An. gambiae* s.s. dénommées Bamako, Savane et Mopti.

Quatre espèces du genre *plasmodium* sont pathogènes pour l'homme: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*.

Les trois premières espèces sont rencontrées au Mali, mais il faut cependant noter qu'un cas de *P. vivax* a été décrit en 1988 (Koita, 1988). *P. falciparum* est l'espèce la plus répandue et la plus meurtrière des quatre. Elle est retrouvée dans 87 à 90% des cas de paludisme (Koita, 1988). La répétition du cycle parasitaire à des intervalles de 48h ou de 72h détermine le type de fièvre: fièvre tierce pour *P. vivax*, *P. ovale*, et fièvre quarte pour *P. malariae*. *Plasmodium falciparum* détermine la fièvre quotidienne.

Le cycle sexué ou sporogonie s'effectue chez le moustique et aboutit à la formation de sporozoïte. Les facteurs régulant ce processus d'infection et le développement du parasite au sein du moustique qui dure 10 à 40 jours (Mazier, 1991) sont très complexes et restent encore non explicites. Parmi les facteurs incriminés, la température, l'humidité et le potentiel infectieux de l'hôte intermédiaire jouent un rôle de premier ordre (Mendis et al., 1993). En plus, le moustique semble posséder ses propres mécanismes intrinsèques de résistance au développement du parasite (Collins et al., 1987). Ces mécanismes se traduisent par le blocage du cycle sporogonique à différents niveaux entre autres au niveau de l'abdomen et/ou des glandes salivaires.

Des études ont porté sur les facteurs régulant le processus d'infection et le développement du parasite au sein du moustique (Collins et al., 1987) ainsi que sur les mécanismes de résistance du vecteur au parasite (Esposito et al, 1987, Lombardi et al 1988, Beier et al 1990).

En effet, les études menées par Boyd (1949) ont montré que les processus biologiques de la sporogonie sont dépendants de la température et que la période d'incubation diffère d'une espèce plasmodiale à une autre. Il a défini les limites de température pour le développement de *P. falciparum* entre 18°C à 32°C, et a ainsi établi que la température influence significativement l'épidémiologie du paludisme à *P. falciparum*.

De nos jours, il y a eu peu d'études sur l'effet de la température sur la dynamique de la transmission de *P. falciparum* dans les conditions naturelles, et le rôle de l'humidité relative (HR) sur le développement de *P. falciparum* reste à déterminer. Cependant les études menées par Touré et al. (1978) ont montré des variations mensuelle et saisonnière de la température et de l'humidité relative mesurées à l'intérieur et à l'extérieur des maisons durant les captures de nuit et de jour à Banambani, où la maladie est à l'état endémique. Mais l'impact de ces variations sur les processus biologiques de la transmission du parasite et son développement au sein du moustique n'a pas été évalué.

De ce fait, le présent travail a pour but d'étudier les différents stades de la sporogonie de *P. falciparum* du vecteur afin de rechercher des antigènes qui pourront servir de candidats pour les vaccins qui bloquent la transmission.

Nous nous proposons d'étudier la sporogonie naturelle de *Plasmodium falciparum* chez les membres du complexe *Anopheles gambiae* et d'évaluer l'impact du micro-environnement au niveau des cases sur ce processus, afin de compléter les études sur le potentiel infectieux des porteurs de gamétocytes, l'épidémiologie ainsi que la transmission du paludisme à Bancoumana, village proposé comme site potentiel pour tester les vaccins bloqueurs de la transmission. Pour mener à bout cette étude, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

DEAP/MRTC/FMPOS

Objectif général

Etudier la sporogonie de *Plasmodium. falciparum* et la transmission du paludisme tout en évaluant l'influence des facteurs environnementaux sur la sporogonie.

Objectifs spécifiques

1- Caractériser la sporogonie naturelle de *P. falciparum*

2- La contribution des membres du complexe *An. gambiae* à la transmission de ce parasite

3- Caractériser la sporogonie expérimentale de *P. falciparum*

4- Evaluer l'effet des facteurs environnementaux sur la sporogonie.

2. GENERALITES

2-GÉNÉRALITÉS:

2.1 Rappels sur le cycle du parasite et la transmission du paludisme.

Les recherches entreprises ces dernières années, pour la mise sur le marché de nouveaux médicaments et les saisis de mise au point d'un vaccin antipaludique, ont considérablement enrichi la connaissance de la biologie du parasite et ont mis en évidence la complexité des relations entre le parasite et ses hôtes. *P. falciparum* évolue chez deux hôtes : l'homme et l'anophèle femelle. Le cycle comprend deux phases (Fig1) :

Une phase de sporogonie ou cycle sexué qui se déroule chez l'anophèle femelle,

Une phase de schizogonie ou multiplication asexuée chez l'homme

2.1.1 Schizogonie ou multiplication asexuée chez l'homme

Au cours de la piqûre, un moustique infesté injecte dans un capillaire des sporozoïtes, formes infestants contenues dans les glandes salivaires.

Les sporozoïtes ne restent dans la circulation sanguine qu'une demi-heure, ils gagnent le foie et pénètrent dans les hépatocytes. Le développement et la multiplication des sporozoïtes repoussent en périphérie le noyau de la cellule.

Le parasite forme une masse multinucléée, appelée schizonte ou corps bleu.

L'éclatement du corps bleu libère de nombreux mérozoïtes qui passent dans la circulation sanguine. Cette période correspond à la Phase d'incubation du paludisme.

La durée de ce cycle dit **cycle exo-érythrocytaire** est de sept à quinze jours.

-Les mérozoïtes pénètrent dans les hématies et se transforment en trophozoïtes.

Ces mérozoïtes présentent une affinité pour tous les globules rouges, quel que soit leur stade. Le trophozoïte se développe, grossit, son noyau se divise, il en résulte un schizonte. Il se charge progressivement d'un pigment spécifique issu de la dégradation de l'hémoglobine : l'hémozoïne ou pigment malarique.

Dans les schizontes mûrs ou corps en rosace, s'individualisent les mérozoïtes qui seront libérés lors de l'éclatement provoquant l'accès thermique clinique.

L'hémozoïne libérée est phagocytée par des polynucléaires ou mononucléaires qui deviennent mélanifères. Ils déversent cette charge pigmentaire dans les tissus, au niveau des cellules du système monocyte-macrophage.

Chaque cycle éthrocytaire dure 48 heures (fièvre tierce maligne). Après plusieurs cycles schizogoniques, apparaissent dans les hématies des éléments à potentiel sexué, les gamétocytes mâles et femelles.

2.1.2 Sporogonie ou cycle sexué chez l'anophèle femelle

En prenant son repas sanguin sur le sujet parasité, l'anophèle femelle absorbe toutes les formes parasitaires présentes dans le sang. Seuls les gamétocytes assurent la poursuite du cycle. Dans l'estomac du moustique, les gamétocytes assurent la poursuite du cycle. Dans l'estomac du moustique, les gamétocytes mâles se transforment en gamètes mâles par exflagellation. Les gamétocytes femelles se transforment en gamètes femelles par expulsion de corpuscules chromatiniens.

La fécondation de gamète femelle donne un œuf mobile, l'ookinète qui traverse la paroi de l'estomac de l'anophèle et se fixe au niveau de sa face externe formant l'oocyste, dans lequel s'individualisent les sporozoïtes qui sont les formes mobiles du parasite (sporogonie).

L'oocyste éclate et les sporozoïtes gagnent préférentiellement les glandes salivaires de l'anophèle. De ce réservoir, ils pourront être injectés avec la salive lors d'une piqûre infestante.

La durée de ce cycle est de douze jours en Afrique tropicale, mais elle peut varier en fonction de la température. Le cycle s'arrête lorsque la température moyenne est inférieure à 18°C.

2.2 Biologie du parasite :

2.2.1 Relations hôte-parasite

La réussite de tous les processus de la sporogonie dépend d'une bonne adaptation du parasite à son hôte invertébré. Les recherches pour comprendre les mécanismes de cette adaptation sont centrées sur les récepteurs de l'estomac de l'anophèle et des protéines de reconnaissance de l'ookinète.

La durée de la sporogonie est de huit jours à 30°C pour *P. falciparum*. En dessous de 18°C et au dessus de 33°C, le développement du parasite est arrêté chez le moustique. Le temps passé par le *Plasmodium* chez son vecteur peut se décomposer en trois parties très inégales : fécondation, croissance des oocystes, libération et migration des sporozoïtes.

Le processus de développement des gamétocytes chez l'anophèle dépend de la température ambiante.

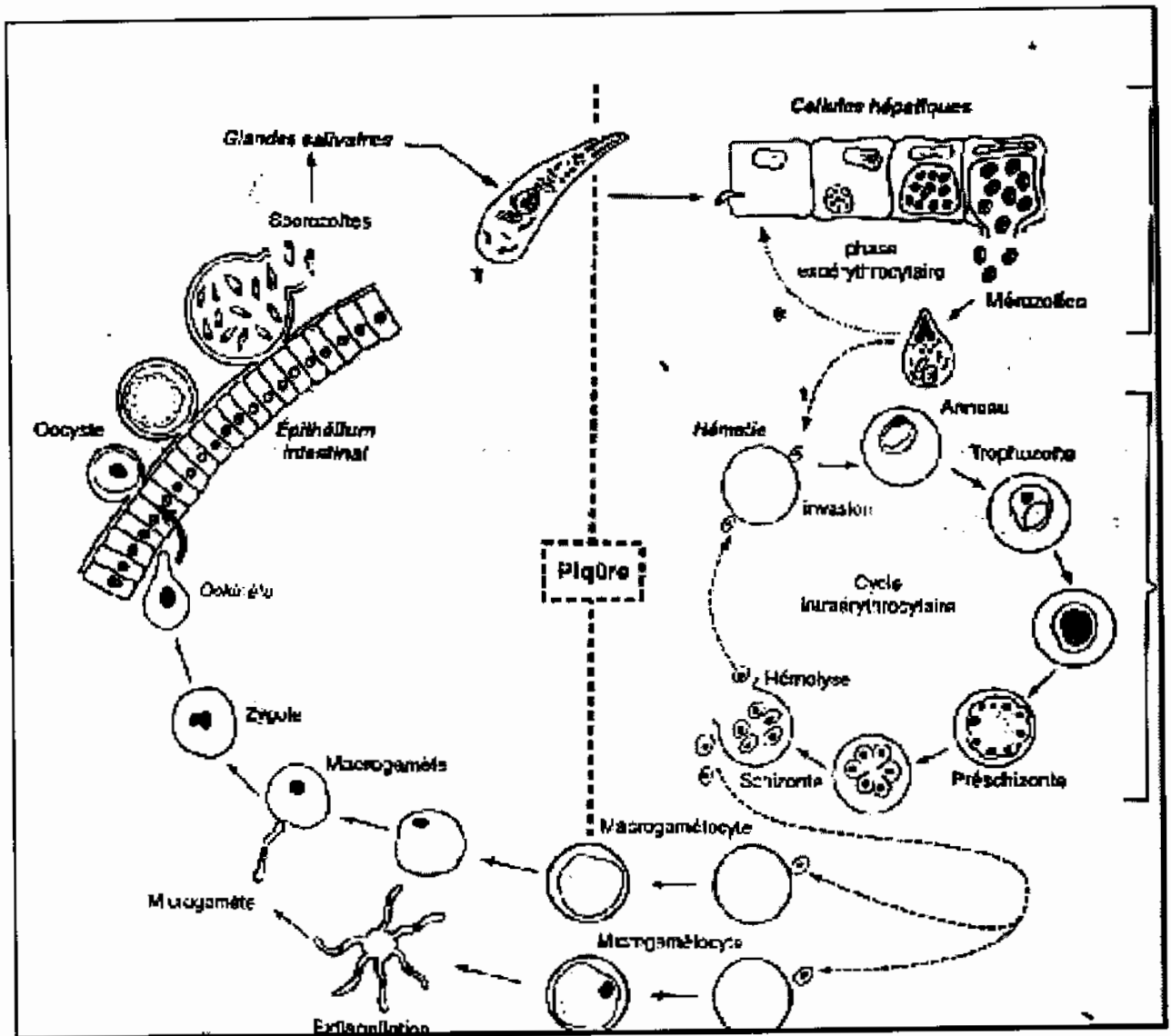
L'ensemble des phénomènes : fécondation, formation de l'ookinète et sortie de l'estomac dure environ 24 heures. Seuls les ookinètes qui adhèrent à la paroi stomacale et qui traversent impunément, se transforment en oocystes.

La maturation de l'oocyste varie de quatre à vingt-et un jours en fonction de la température ambiante. Plusieurs centaines de sporozoïtes sont formés à partir de la cellule initiale de l'œuf fécondé.

Après l'éclatement des oocystes, les sporozoïtes libérés se concentrent en 24 heures dans les glandes salivaires, où ils peuvent rester pendant plusieurs jours.

C'est à ce stade qu'est synthétisée la « Circum Sporozoite protein » (CSP), protéine située à la surface du sporozoïte. La CSP domine le stade de la sporogonie.

Fig 1 : Cycle évolutif du *Plasmodium* (Encyclopédie Médico-Chirurgicale Tome 4 8-507-A-10).



3.METHODOLOGIE

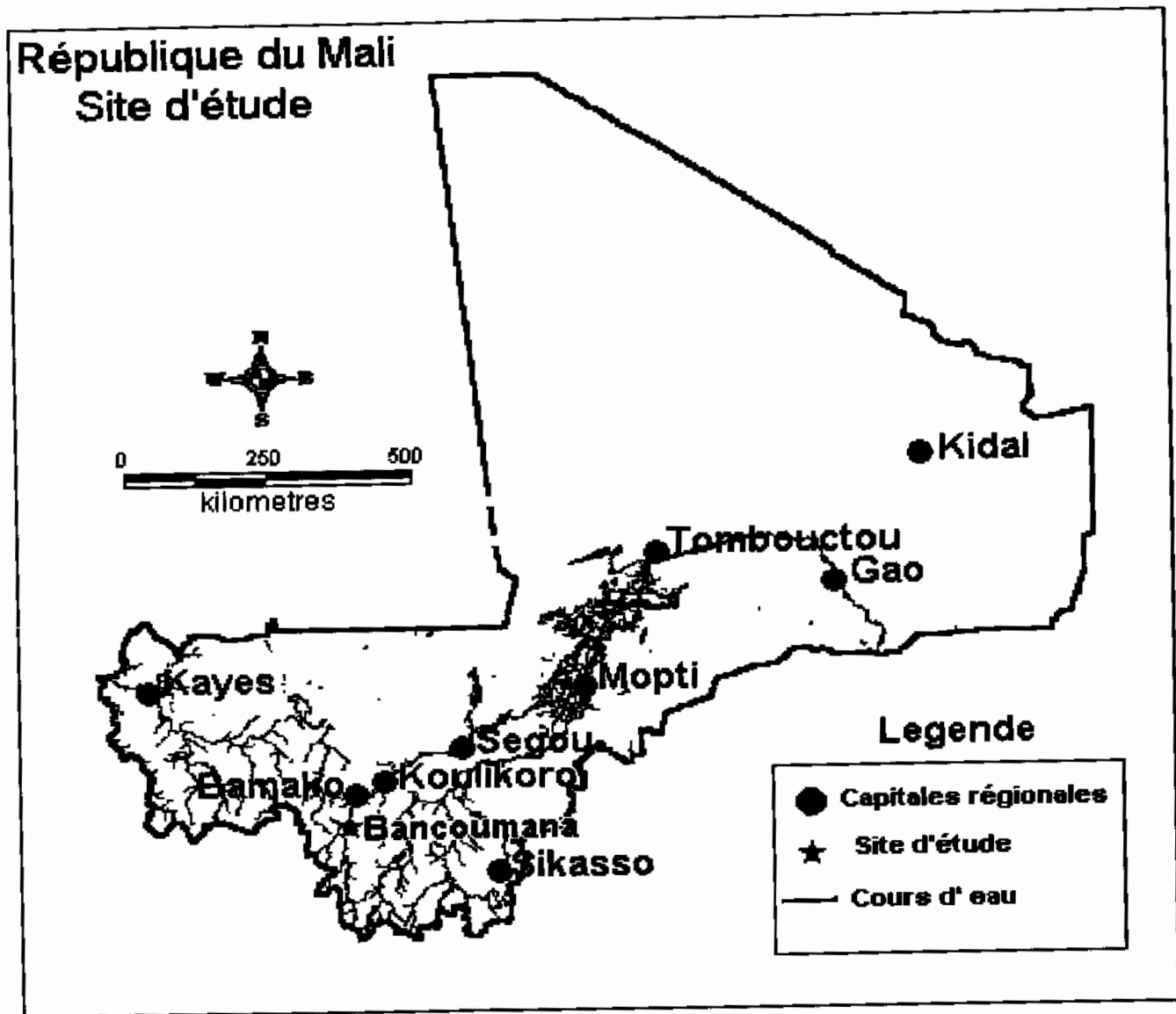
3. METHODOLOGIE:

3.1 LIEU D'ETUDE: Bancoumana.

3.1.1 Position géographique (coordonnées)

Le village de Bancoumana est situé à 60 kms au Sud-ouest de Bamako. Il couvre une superficie de 2,5 km² en bordure de la plaine de la haute vallée du Niger (Djoliba). Il est limité au Nord par le village de Sibi, (chef lieu d'arrondissement) au Nord-Est par les villages de Kolé et de Bally, au Nord-Ouest par Samako, au Sud- Ouest par Nanguilabougou et au Sud-Est par le fleuve Niger. Bancoumana se situe à 8°20 longitudes Ouest et à 12°20 latitude Nord. Vers la sortie du village (côté sud) se trouve la mare « sacrée » qui forme par endroit d'innombrables gîtes larvaires en saison pluvieuse.

Fig2 : Localisation du village de Bancoumana sur la carte du Mali



Source : MRTC - DEAP - FMPOS , Section GIS/RS

3.1.2 Historique

Le village de Bancoumana était connu comme un site avec une potentialité de chasse fructueuse depuis le moyen âge (16^{ème} siècle). A cette période un des chefs guerriers de la contrée de Naréna du nom de Nankoma Keita revenant d'une de ses expéditions sur Kong (Sikasso), où il allait faire des razzias, découvra Bancoumana.

Il demanda à son fidèle compagnon qui était son jeune frère de conduire le butin d'esclaves pour le remettre à leur grand frère. Celui-ci ayant reçu le message, s'opposa catégoriquement et ordonna à Nankoma de rejoindre immédiatement Naréna. Nankoma à son tour réagit par un "Non" et déclara: " d'ailleurs je refuse la parole" en Bambara "N'yé ban kouma na", qui devient par la suite Bancoumana. Trois frères Camara s'y établirent sous la protection d'un détachement de guerriers de Kenyeroba, à l'issue des guerres fratricides avec l'autorisation de Nankoma. Ce dernier avait fini par abandonner le site sous les exigences de son grand-frère.

3.1.3 Climat et Végétation

Le village de Bancoumana est situé dans la zone soudano-guinéenne. Le climat est de type soudanien avec un écart de température assez important au cours de l'année. Les températures les plus basses (18°C) sont observées au mois de Janvier et les plus hautes au mois de Mai (38°C). La mousson, vent maritime soufflant d'Est et l'harmattan, vent continental soufflant du Nord se succèdent le long de l'année.

La végétation est de type savane herbeuse avec quelques galeries forestières le long du fleuve Niger et de son affluent. On y rencontre de grands arbres comme le karité (*Vitellaria paradoxa*); le Néré (*Parkia biglobosa*). Les arbustes sont surtout représentés. L'étude s'est déroulée de Juin 1999 à Décembre 2000 par *Guiera senegalensis*. La faune est constituée par de petits mammifères notamment les lièvres, les hérissons et quelques phacochères.

3.1.4 Relief et Hydrographie

Le Relief de Bancoumana est constitué d'une vaste plaine rizicole de 1000 hectares environ qui s'étale entre le village et le fleuve Niger situé à l'Est et à 5 km du village. Bancoumana est arrosé par un affluent appelé koba qui coule de l'Est vers le Sud.

3.1.5 Démographie

La population de Bancoumana, caractérisée par sa jeunesse s'élève à 10.000 habitants dont 2700 enfants environ selon le recensement effectué par l'équipe de parasitologie du DEAP en 1997. En plus des Malinkés qui constituent l'ethnie dominante (95%). Les Peulh-éleveurs, Bozo-pêcheurs, Bambaras, Sarakolés et Somonos partagent les (5%). Les vieilles coutumes animistes ont tendance à être abandonnées au profit de l' Islam qui est la religion dominante.

3.1.6 Economie

Les produits de cueillette (noix de Karité, fruits du Néré et le Tamarin) constituent les ressources naturelles. L'agriculture est essentiellement basée sur les cultures vivrières (le petit mil, le sorgho, le riz, le maïs et le haricot); Les cultures maraichères telles que la tomate, l'aubergine et le tabac y sont pratiquées dans les plantations, on rencontre des manguiers, des bananiers, des orangers et des papayiers. L'élevage des bovins, ovins, caprins, équins, volailles constitue une source de revenu. La pêche pratiquée dans le fleuve niger, est appréciée par la présence des poissons de diverses variétés.

La forge et la poterie sont les principales activités de l'artisanat.

3.1.7 Organisation administrative

À Bancoumana la chefferie était le monopole de la famille Camara fondatrice du village. De façon coutumière la succession du chef au sein de cette famille se faisait selon le patriarcat. De sa création à nos jours le village de Bancoumana a connu 19 chefs tous de la famille Camara.

3.1.8 Infrastructures

Le village de Bancoumana abrite un centre de santé communautaire dirigé par un médecin, une école fondamentale (premier et second cycle) et une école primaire franco-arabe.

Le village est accessible en toutes saisons grâce à une route nationale reliant Bamako et Kankan en République de Guinée.

3.1.9 Justification du choix de Bancoumana

Le choix de Bancoumana s'explique par:

- les études épidémiologiques effectuées dans les années précédentes ont indiqué que la prévalence de l'infection parmi les enfants de 0 à 10 ans est de l'ordre de 85% pendant les six mois de la saison pluvieuse (de Mai en Octobre), situant Bancoumana dans la zone hyperendémique,
- l'étroite relation entre le MRTC (Malaria Research and Training Center) et le village de Bancoumana,
- les études entomologiques effectuées en 1994, ont montré que la transmission du paludisme est assurée par *Anopheles gambiae ss* et *Anopheles arabiensis* ;
- l'accès facile du village en toute saison.

3.2 PERIODE D'ETUDE

L'étude s'est déroulée de Juin 1999 à Décembre 2000.

3.3 SPOROGONIE DANS LES CONDITIONS NATURELLES

Cette première phase de notre étude s'intéresse à la détermination du taux d'infection des différents stades du développement du parasite au sein de l'anophèle. Ce sont respectivement le **macrogamète, l'ookinète, l'oocyste et le sporozoïte.**

3.3.1 Type d'étude

L'étude de la sporogonie est une étude longitudinale à l'échelle du village avec des passages transversaux mensuels. Au total 14 passages ont été effectués.

3.3.2 Technique d'échantillonnage (capture des moustiques)

Les moustiques ont été capturés par 2 méthodes, dont la capture de nuit sur appât humain de 18h-6h du matin; suivi le lendemain, de la capture de la faune résiduelle par aspirateur à bouche le matin.

Parallèlement, des captures hebdomadaires à l'aspirateur ont aussi eu lieu. Les femelles capturées sont transportées au laboratoire afin de les faire pondre pour générer les moustiques F1 utilisés dans le cadre de l'infestation expérimentale.

3.3.3 Capture pour la détermination du taux d'infection pour macrogamètes

Elle est organisée de 5h – 30mn à 7 heures du matin dans les habitations tous les deux jours et quatre fois à chaque passage. Les anophèles femelles visiblement gorgées sont collectées à l'aide des aspirateurs à bouche, et sont conservées dans des pots en carton qui sont placés dans des caissons recouvertes de serpillières mouillées permettant aux moustiques d'être dans les conditions d'humidité convenables.

-Dissection

Elle s'effectue seulement sur les moustiques fraîchement gorgés susdécrits.

***Matériels**

Table de dissection

Chaises

Loupes binoculaires

Pinces

Aiguilles montées

Lames porte objet

Boîtes de pétri

Portoirs

Micro tubes,

Boîte de conservation des lames, type OMS

***Réactifs**

PBS (phosphate buffer saline)

Fixateur de Carnoy (3 V Ethanol +1V Acide acétique)

***Mode opératoire**

Agiter le pot contenant les moustiques pour les assommer sans les écraser puis les mettre dans une boîte de pétri qui contient du papier absorbant mouillé. La dissection se fait sous une loupe binoculaire sur une lame. Une goutte de PBS est déposée sur la lame porte objet, le moustique est déposé dans la goutte de PBS sur le dos, et à l'aide d'une aiguille, on appue au niveau du 2^{ème} segment partant du thorax tout en maintenant la pression, à l'aide d'une pince on tire les derniers segments par un mouvement continu et doux. l'estomac est ainsi extrait avec les ovaires et les tubes de Malpighi. Nous enlevons les autres éléments pour faire la goutte épaisse à partir du sang contenu dans l'estomac. La lame ainsi préparée est gardée dans la boîte de conservation type OMS. Le reste du corps des moustiques est partagé en tête –thorax et abdomen et mis dans un micro tube contenant du fixateur.

Cette première phase de dissection concerne seulement les anophèles gorgées.

-Coloration:*** Matériels:**

Bac de coloration

Râtelier

Eprouvette graduée

Chronomètre

*** Réactifs**

Eau tamponnée (un comprimé tampon à pH 7,2 pour un litre d'eau désionisée),

Giemsa dilué

Méthanol

Eau simple

*** Mode opératoire**

Les lames portant les gouttes épaisses sont d'abord fixées à l'alcool (méthanol) pendant 5 mn

Placer les lames dans le bac de coloration, ajouter la solution de Giemsa à 5%. dilué à l'eau tamponnée à 5%, attendre 15 à 20 mn, rincer avec l'eau et laisser sécher sur le râtelier.

Les lames ainsi colorées sont gardées dans la boîte de collection des lames type OMS

-Lecture*** Matériels et réactifs**

Source d'énergie (groupe électrogène)

Microscopes

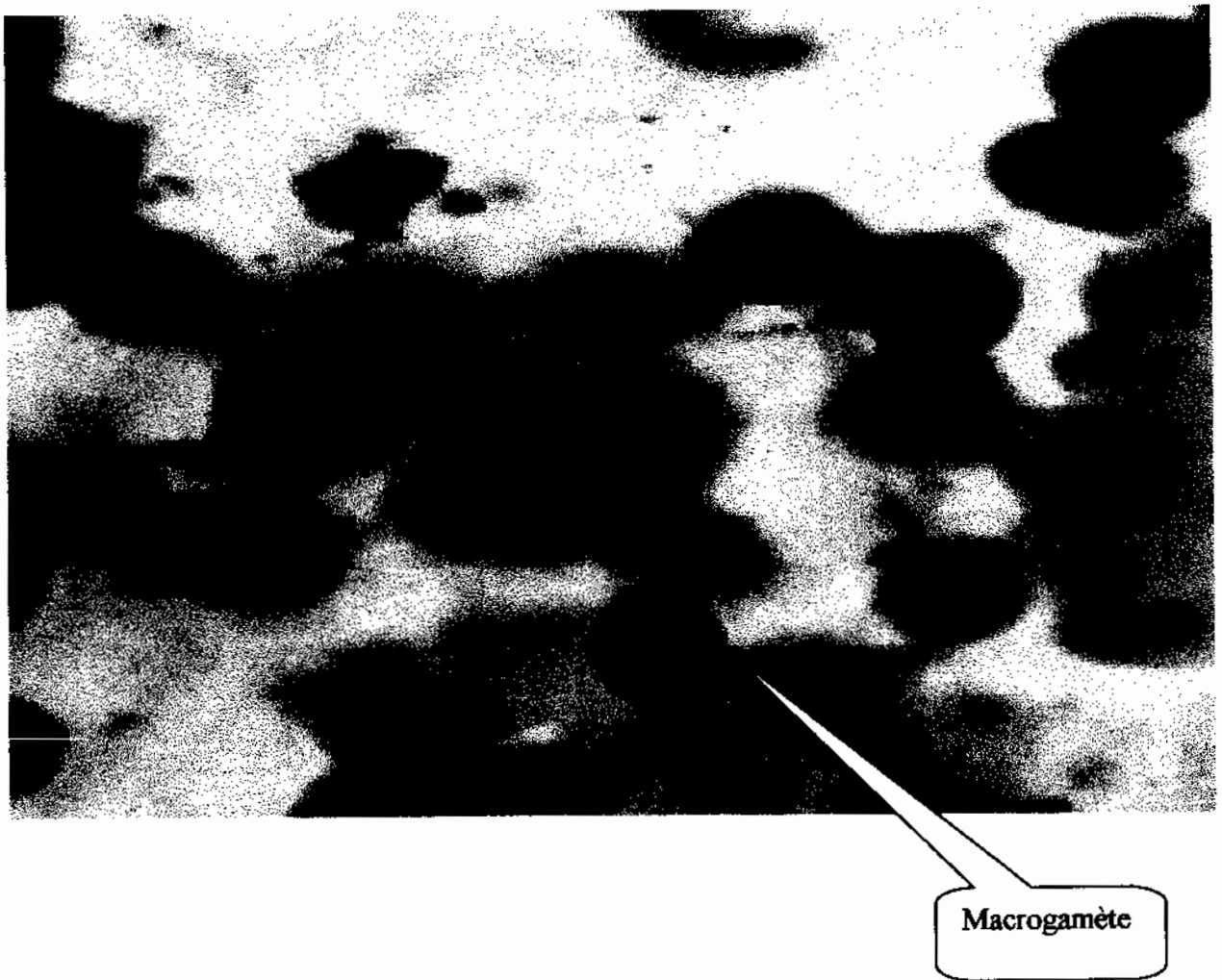
Huile d'immersion.

*** Mode opératoire:**

La lame est lue au microscope électrique à l'objectif 100 à l'immersion.

Le **macrogamète** se présente sous forme sphérique avec un noyau rougeâtre excentrique et les pigments recouvrent le reste du corps.

Fig 4: Image d'un macrogamète dans un champ microscopique d'une goutte épaisse confectionnée à partir du sang d'un moustique fraîchement gorgé



Source : MRTC – DEAP – FMPOS , Section GIS/RS

3.3.4 Capture pour la détermination du taux d'infection pour ookinète

L'ookinète est le second stade du développement normal du parasite (*Plasmodium*) chez le moustique après le zygote. Ce stade de développement du parasite est atteint normalement au bout de 18h à 24h après que le moustique ait pris du sang infecté.

La capture des moustiques est organisée de 8 h à 10h 30mn du matin. Deux groupes de captureurs se déplacent avec les numéros des cases indiquées (10 cases au moins par équipe et par bloc). Chaque groupe compte 3 captureurs. Les femelles collectées à l'aide des aspirateurs à bouche sont conservées dans les conditions de température et d'humidité convenables ; Le pot de capture porte le numéro de la case prospectée. La durée de conservation est de 10 heures de temps au moins (9h30mn à 20h). Pendant cette période, les moustiques gorgés deviennent semi-gravides. Cet état de réplétion est celui favorable pour déterminer la présence de l'**ookinète**.

- Dissection

Elle est identique à celle sus-décrite pour la recherche des macrogamétocytes

* Mode opératoire

La goutte épaisse est faite à partir du reste du sang contenu dans l'estomac du moustique à fin d'avoir plus de chance de rencontre les ookinètes à la lecture des gouttes.

Les autres moustiques (gorgés et gravides), s'ils sont présents sont gardés intacts dans les micro tubes contenant le fixateur et portant le numéro de la case où le moustique a été capturé.

Ces moustiques sont ensuite triés puis traités plus tard à l'ELISA puis à la PCR avec ceux qui ont été capturés par pulvérisation d'insecticides pour respecter l'échantillonnage exhaustif d'une chambre donnée.

-Coloration et Lecture

La lame ainsi préparée est colorée et lue de la même façon que précédemment. L'ookinète se présente sous forme de banane avec un noyau au centre et des pigments à l'extrémité supérieure. (cf. *Photo* ci- dessous)

Fig5: Image d'un ookinète dans un champ microscopique d'une goutte épaisse confectionnée à partir du sang d'un moustique semi-gravide.



Source : MRTC – DEAP – FMPOS , Section GIS/RS

3.3.5 Capture pour la détermination du taux d'infection pour oocyste

L'oocyste correspond au stade III du développement normal du parasite au sein du moustique. Cette capture se fait à l'intérieur et à l'extérieur des cases.

Dans chacun des blocs ont été choisis deux postes de capture. Le temps de capture s'étend de 18h à 6h du matin le lendemain. Toutes les 2 heures les captureurs (celui de l'intérieur et celui de l'extérieur au même poste) changent de place en maintenant toujours l'ordre: l'un à l'extérieur et l'autre à l'intérieur de la case. Les pots sont changés à chaque tranche horaire.

Les moustiques ainsi collectés à l'aide des aspirateurs à bouche sont conservés dans des caissons recouvertes de serpillères mouillées en attendant la dissection.

- Dissection:

Seules les femelles à jeûn sont concernées par cette dissection.

* Matériels

Les lamelles sont utilisées en plus du matériel cité dans le cadre de la détermination des deux premiers stades du développement du parasite chez le moustique (macrogamétocyte et ookinète).

* Réactifs

Fixateur

Mercurochrome : (mercuroseïne 0.5g pour 100ml d'eau distillée)

* Mode opératoire

La dissection se fait sous une loupe binoculaire.

Le moustique assommé est déposé sur le dos dans la goutte de mercurochrome et à l'aide d'une aiguille on appuie au niveau du thorax puis à l'aide d'une pince on tire les deux derniers segments en un mouvement continu et doux. L'estomac est extrait avec les ovaires et les tubes de malpighi, on enlève les autres éléments, puis on étale sur la lame l'estomac et les ovaires du moustique .

- Lecture

Les lames sont lues au microscope optique à l'objectif 10 immédiatement après dissection.

L'estomac et l'ovaire déposés sur la lame sont recouverts d'une lamelle. On recherche les oocystes sur la paroi stomacale. Ils se présentent sous forme arrondie avec une double membrane de couleur rose. L'état de déroulement ou d'enroulement des trachéoles ovariennes permet de déterminer la parité. Le moustique pare présente des trachéoles déroulées. Les résultats sont ensuite portés sur des fiches de base (Cf annexe) après la lecture.

3.3.6 Captures pour la détermination du taux d'infection pour sporozoïtes

La détermination de ce stade du développement du moustique utilise les deux méthodes de collecte de moustiques (PSC et ASP). Le sporozoïte est le dernier stade de développement normal du parasite au sein du moustique, et se situe au niveau des glandes salivaires. La détection de sporozoïtes de *Plasmodium* humain dans les glandes salivaires du moustique est importante pour établir la capacité vectorielle de la population anophélienne.

L'indice sporozoïtique peut être utilisé pour estimer le taux d'inoculation de sporozoïtes dans la population de moustiques piqueurs, et constitue un paramètre clé de l'analyse quantitative de la transmission naturelle.

-La dissection des glandes salivaires pour rechercher les sporozoïtes de *Plasmodium* chez le moustique est longue et exige des compétences techniques. En plus l'identification de l'espèce parasitaire n'est pas possible par cette technique. Pour toutes ces raisons, la technique d'ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) a été choisie pour la recherche de la protéine circum sporozoïtique de *P. falciparum* afin d'estimer le taux d'infection.

3.3.6.1 Traitement des échantillons

Après la dissection des moustiques les restes du corps du moustique gardés dans des microtubes contenant le fixateur, sont traités au laboratoire par les techniques ELISA ou PCR. La première permet l'identification du repas de sang, et d'estimer rapidement les taux d'antigènes sporozoïtiques. La seconde permet l'identification des membres du complexe *An. gambiae*.

3.3.6.1.1 La technique d'immunodiagnostic ELISA

Elle repose sur des anticorps monoclonaux dirigés contre les protéines circumsporozoïtares (pcs) et permet une estimation rapide des taux d'antigènes sporozoïtiques et densités de sporozoïtes dans les grands échantillons de moustiques. Le test ELISA exige des installations de laboratoire, des moyens financiers considérables.

a) Mode opératoire

- mettre, les têtes-thorax dans les tubes Eppendorf de 1,5 ml, portant les références des moustiques ;
- ajouter 50 µl de BB.NP.40 (Nonidept-40) dans chaque tube et broyer les têtes -thorax à l'aide de petits pilons stériles,
- ajouter 200 µl de BB pour obtenir un volume final de 250µl dans les tubes, aspirer le BB,
- mettre 50µl de chaque broyat de moustique dans les puits correspondants laisser incuber pendant 2 heures,
- aspirer les broyats et laver les plaques avec la solution de lavage (PBS+Tween 20)
- déposer 50µl d'anticorps monoclonal marqué à la peroxydase dans chaque puit et laisser incuber pendant une heure,
- aspirer l'anticorps monoclonal marqué et laver 3 fois les plaques avec la solution de lavage,
- ajouter 100µl de substrat révélateur (ABTS: diéthylène benzothiazoline sulphonate à chaque puit)

b) Lecture

Avant d'aspirer le BB, laisser reposer le mélange .

La coloration verte observée au bout de 30 à 60 mn dans les puits, indique la présence d'
antigène sporozoïtique

3.4 ETUDE DE LA TRANSMISSION DE *PLASMODIUM FALCIPARUM*

la fréquence des membres du complexe *Anophelès gambiae* sl, la densité (d) de *An. gambiae*, l'agressivité (ma), la parité (P) et le taux d'inoculation entomologique (h) sont les paramètres étudiés dans cette deuxième phase de notre étude.

3.4.1 Technique déchantillonnage:

L'échantillonnage se fait à partir des différentes méthodes de capture décrites plus haut. Il s'agit bien de la capture de nuit sur appât humain de 18h-6h ; suivi la veille, de la capture de la faune résiduelle par aspirateur à bouche le matin et l'après midi (à partir de 15h) par aspersion intradomiciliaire de pyréthrinoides. L'aspersion intradomiciliaire a lieu dans les mêmes cases où a lieu la capture à l'aspirateur afin d'avoir le maximum de moustiques semi-gravides surtout pendant les périodes (Novembre et Décembre) de faibles densités anophéliennes.

3.4.1.1 Captures de nuit (CN) (Cf sporogonie naturelle 3.3.5)

A la différence de la sporogonie cette méthode permet de déterminer la parité et par conséquent d'indiquer la longévité ainsi que l'agressivité du moustique.

3.4.1.2 Captures de jour "Spray-catch"

Pour obtenir le maximum de femelles d'*An. gambiae* sl. Semi-gravides, ces captures débutent à partir de 15 heures. Elles consistent en une aspersion d'insecticide dans des chambres à coucher. Les portes et les fenêtres de la case sont fermées pendant environ 5 minutes et l'insecticide est pulvérisé dans toutes les directions. Les moustiques sont récoltés sur des draps blancs placés à terre avant l'aspersion. Aux maximum 180 cases sont prospectées par passage. Les moustiques capturés dans la même case sont conservés séparément dans des flacons contenant le fixateur de Carnoy. (Chaque flacon, porte le numéro de la case et la date de la capture). Au cours des captures, le type de case, le nombre de dormeurs et le propriétaire de la case sont relevés.

Ces moustiques sont ensuite triés plus tard avec les autres stades de ceux qui ont été capturés dans les mêmes habitations humaines par aspirateur à bouche le matin à 8 h pour respecter, l'échantillonnage exhaustif d'une chambre prospectée.

Les femelles à jeun, gorgées, et gravides sont découpées en tête-thorax et abdomen. Les abdomens pour l'identification des espèces à la technique de la PCR et les tête-thorax sont traités à l'ELISA. Pour établir l'indice d'antigène sporozoïtique (IAS) ; Les femelles semi-gravides sont disséquées de la manière suivante :

Les ovaires sont extraits et conservés individuellement dans le fixateur de Carnoy contenu dans des microtubes ; ils serviront à l'identification cytotaxonomique des différents taxa qui composent le complexe *An. gambiae* ; Le repas de sang est récupéré, conservé dans le fixateur et servira à la détermination du taux d'anthropophilie. La tête et le thorax sont gardés dans le fixateur de Carnoy et serviront à la détermination du taux d'antigène sporozoïtique.

NB: Ovaire, repas de sang, tête-thorax d'un même moustique ont le même numéro.

3.4.2 Détermination des paramètres :

3.4.2.1 : Identification des membres du complexe *Anopheles gambiae*

Elle se fait au laboratoire par la technique PCR. Les abdomens des moustiques (*An. gambiae* s.l à jeûn, gorgés et gravides issus des captures de nuit et de « spray catch » sont traités.

a) Extraction de l'ADN

- les moustiques sont répartis en fonction de leur provenance,
- les tubes Eppendorf de 1,5 ml sont numérotés conformément à l'étiquette accompagnant chaque moustique,
- mettre 50 µl de "grinding buffer"(tampon d'extraction) dans chaque tube contenant le moustique,
- triturer avec le pilon jusqu'à l'écrasement complet du moustique,
- incuber au bain-marie à 65°C pendant 30mn,

- ajouter 7µl d'une solution d'acétate de potassium à 8 moles pendant que les tubes sont encore chauds; bien mélanger l'ensemble en tapotant sur le tube,
- faire refroidir les sur la glace pendant 30 mn;
- centrifuger pendant 15 mn (14 000tours/mn) et transférer le surnageant dans des tubes Eppendorf contenant 100 µl d'éthanol pur, bien mélanger,
- centrifuger pendant 5 mn, (14 000tours/mn)
- verser le surnageant sur du papier hygiénique,
- ajouter 100 µl d'éthanol à 70% dans l'eau, centrifuger 5 mn (14 000tours/mn),
- verser le surnageant et laisser sécher les tubes contenant l'ADN,
- dissoudre l'ADN ainsi extrait dans 100 µl de Tris-EDTA (Ethylene Dinitrilo Tetra acetic Acid) ou dans de l'eau distillée et stérile, conserver à -4°C jusqu'à l'amplification.

b) Composition de la mixture pour un specimen

- 5,13 µl d'eau désionisée stérile
- 1 µl de P.C.R. buffer (10X)
- 1 µl de MgCl₂
- 0,2 µl de dNTP (dTTP, dATP, dGTP, dCTP)
- 0,2 µl d'amorce 1 *
- 0,2 µl d'amorce 2 **
- 0,2 µl d'amorce 3 ***
- 0,07 µl de Taq polymérase

NB:* = universel, commun à l'espèce *An.gambiae* s.s et à l'espèce *An. arabiensis*

** = spécifique à l'espèce *An gambiae* s.s ; *** = spécifique à l'espèce *An. arabiensis*

2 µl de l'ADN extrait .

Les contrôles positifs sont composés d'un tube contenant 12 µl de solution mixte plus 1 µl d'ADN d'un specimen *An. gambiae* ss et d'un tube contenant 12 µl de solution mixte plus 1 µl d'ADN d'*An. arabiensis*

Le contrôle négatif ne contient que 12 µl de mixte et 1µl d'eau.

c) Mode opératoire

Elle se passe dans une machine programmable (Programmable Thermal Controller) où sont introduits des microtubes eppendorfs contenant les réactifs nécessaires aux différentes réactions. Au cours de l'amplification, il se produit une variation cyclique de la température :

- 1- la dénaturation à 94°C, au cours de laquelle les deux brins de la molécule d'A.D.N. se séparent,
- 2- l'appariement à 50°C où les amorces par, un jeu de la complémentarité des bases (A-T; C-G) se fixent sur les différents brins séparés,
- 3- l'extension à 72°C où sous l'action de la taq polymérase les déoxynucléotides triphosphates (dNTP) viennent compléter l'action des amorces.

d) Préparation du gel et électrophorèse

La migration électrophorétique de l'ADN s'effectue sur du gel d'agarose solidifié, qui se prépare à partir de 100 ml de TBE= Tris Borate EDTA, 5 µl du bromure d'éthidium et 2 g d'agarose :

- dissoudre 2g d'agarose dans 100ml de TBE
- ajouter 5 µl de bromure d'éthidium

Ce mélange est solubilisé au four à microonde pendant 2 mn et mis dans un bac à électrophorèse où il se solidifie. Sur ce gel on dispose un peigne dans le bac. Lorsque le gel se solidifie, on enlève les peignes qui laisseront des puits sur le gel. Et les échantillons seront logés dans ces puits: 2 µl de bleu de bromothymol et 10µl de l'ADN amplifié. Dans les puits situés aux deux extrémités du gel sont logés 15 µl de marqueur constitué de molécule, d'ADN. de tailles différentes et dont certaines sont spécifiques de l'espèce (*An. gambiae s.s.*) ou de (*An. arabiensis*). Dans les puits situés entre les marqueurs sont introduits l'ADN des différents échantillons à identifier.

La solution de migration est le Tris Borate EDTA (TBE) à 0.5 mole.

La migration des bandes d'ADN se fait en fonction de leurs poids moléculaires après passage du courant électrique du pôle négatif vers le pôle positif.

e) Lecture des bandes d'ADN

Le gel est transféré sur un appareil à lumière ultra-violette. La bande de chacune des réactions est comparée à celle de l'espèce *An.gambiae s.s* ou *An.arabiensis* des contrôles positifs. Les bandes d'ADN sont révélées à la lumière ultra-violette fluorescente grâce à la présence du bromure d'éthidium fixé sur leurs ponts d'hydrogène.

3.4.2.2 La densité (d) :

Elle est déterminée directement après la collecte des moustiques sur terrain.

C'est le nombre d'*An gambiae* par case et par passage.

3.4.2.3 L'agressivité (ma):

Elle est aussi déterminée directement sur le terrain.

C'est le nombre de piqûres reçues par homme et par nuit.

3.4.2.4 La parité (P) :

Elle est déterminée également sur le terrain après la lecture des ovaires au microscope optique à l'objectif 10.

C'est le pourcentage de femelles pares sur l'ensemble des femelles disséquées.

3.4.2.5 Taux d'inoculation entomologique :

Elle est déterminée au laboratoire après traitement des femelles (têtes-thorax) à l'ELIZA.

Il correspond au nombre de piqûres infectantes par homme et par nuit. $H = ma.I_s$

(formule de Mac-Donald, 1956); où ma est l'agressivité, et l' I_s est l'indice sporozoïtique.

3.5 SPOROGENIE DANS LES CONDITIONS EXPERIMENTALES

Cette étude longitudinale avec des passages transversaux répétés a été menée en même temps que celle de la sporogonie naturelle de Juin 1999 à Décembre 2000. Ces passages étaient organisés deux fois par mois (tous les quinze jours) avec 26 passages au total.

Cette troisième étape de notre travail s'occupe également de la détermination des taux d'infection pour **macrogamète**, pour **ookinète** et pour l'**oocyste** mais dans les conditions de laboratoire.

3.5.1 Technique d'échantillonnage (moustiques d'élevage)

Comme précédemment dit les femelles capturées à l'aide d'un aspirateur à bouche à Bancoumana sont mises en oviposition au laboratoire. (Cf 3.3.2)

3.5.1.1 Elevage des moustiques

Les moustiques sont élevés à l'insectarium du MRTC à Bamako. Ils sont maintenus à une température de 27°C avec une humidité relative comprise entre 77 et 80%. L'insectarium est illuminé 12 heures sur 24 pour simuler l'alternance jour et nuit. Pour les pontes, les moustiques sont gorgés sur des cobayes ou sur des volontaires (personnel du laboratoire). Des pontes collectives et individuelles y sont effectuées en fonction des nécessités. Des pondoirs sont placés dans des cages avec des femelles gorgées. Le cycle gonotrophique dure 48h.

Après la ponte les oeufs sont transférés dans un plateau en plastique contenant de l'eau désionisée avec un papier flotteur pour maintenir les oeufs en surface. Au bout de un à deux jours les oeufs éclosent. L'eau du plateau est renouvelée chaque matin. Après quatre stades de transformation, les larves donnent des nymphes qui émergent après environ une nuit pour donner les imagos. De l'éclosion à l'image il y a, en moyenne, huit à dix jours.

Les larves sont nourries de poudres d'aliments à base de lait, calcium, et des sels minéraux. La quantité de cette poudre d'aliments augmente avec le stade d'évolution des larves. La poudre est donnée deux fois par jour. Les imagos sont nourris sur du coton imbibé de jus sucré déposé sur la cage les contenant. Le jus est renouvelé tous les deux jours.

3.5.2 Déroulement pratique du travail:

3.5.2.1 Sur Terrain

3.5.2.1.1 Sensibilisation de la population de Bancoumana

Une rencontre est organisée entre les représentants du laboratoire, le chef de village et ses conseillers pour expliquer les objectifs du travail. Après accord, Les conseillers informent les chefs de familles. Le protocole d'étude est alors soumis, avec l'accord verbal des villageois, au comité d'éthique de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. Le travail a été exécuté après l'accord du comité d'éthique de la faculté et le consentement éclairé, écrit et signé de la communauté de Bancoumana représentée par le chef du village et ses conseillers.

3.5.2.1.2 Sélection des familles

Trente familles sont choisies par passage de façon aléatoire parmi les 340 familles de Bancoumana. On recherche dix porteurs à charge gamétocytaire élevée sur les 200 sujets retenus par passage de façon aléatoire.

3.5.2.1.3 Organisation du travail

La première équipe, parasito-clinique, est composée d'un ou de deux biologistes, d'un médecin et d'un pharmacien et d'un guide chargé d'informer les familles des enfants la veille du dépistage. La deuxième équipe, entomologique, est composée d'un médecin et d'un pharmacien et d'un guide chargé d'informer les familles des enfants la veille du dépistage.

3.5.2.1.4 Dépistage

Il consiste à identifier les porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* dans la population d'enfants sélectionnés de 4 à 18 ans par la technique de la goutte épaisse.

L'équipe parasito-clinique, au matin de la journée de travail, fait venir les enfants au centre de santé accompagnés de guides.

Les enfants sont identifiés par familles avec un numéro d'enregistrement, âge, sexe, noms du père et de la mère. Un tiquet leur est remis comportant: Le nom, le prénom et le N° d'identification. Tous les enfants sont examinés par le clinicien: température corporelle, poids et palpation de la rate.

3.5.2.2 Au laboratoire

Les deux porteurs les plus chargés sont acheminés au laboratoire accompagnés d'un adulte avec le consentement des parents. Le parent qui accompagne les enfants est tenu informé de toutes les séances de l'infestation expérimentale qui se tiennent au laboratoire. L'expérimentation. Ici se tient la séance d'infection directe pour chaque porteur le premier jour et le jour suivant. Les anophèles triés (25 à 30 anophèles par pot) sont gorgés directement sur ces deux porteurs à l'insectarium.

3.5.2.2.1 Principe de l'infection expérimentale directe

Sur les jambes des porteurs de gamétocytes, deux pots contenant les anophèles à jeûns sont appliqués pendant 10-15 mn. Après les séances d'infection, les moustiques sont mis au repos dans des caissons recouvert de serpière mouillée. Le lendemain matin les moustiques n'ayant pas pris le repas de sang sont retirés des pots à l'aide d'un aspirateur de transfert. Du coton imbibé de jus sucré à 5% est déposé sur chaque pot jusqu'au huitième jour où ils seront disséqués pour la lecture des oocystes.

3.5.2.2.2 Détermination des paramètres étudiés :

a) Macrogamète : Elle est déterminée à partir de la goutte épaisse.

-La goutte épaisse est confectionnée à partir du sang du moustique fraîchement gorgé (1 h après l'infestation)

-Le macrogamète est lu sur la goutte au microscope à l'objectif 100 à immersion.

b) Ookinète : Comme précédemment elle est déterminée à partir de la goutte épaisse.

-La goutte épaisse est confectionnée à partir du sang du moustique semi-gravide (24h après l'infestation).

-L'ookinète est lu sur la goutte au microscope à l'objectif 100 à immersion.

c) Oocyste : Ce troisième stade de développement du parasite au sein du moustique est déterminé à partir de l'estomac du moustique lu au microscope à l'objectif 10 dans une goutte de mercurochrome.

-Le moustique utilisé a été gorgé sur le porteur de gametocyte il y a huit jours.

3.6 EVALUATION DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX ET LEUR INFLUENCE SUR LA SPOROGENIE

Cette dernière étape de nos objectifs détermine la **température** et l'**humidité relative** dans les habitations humaines où se font les captures des moustiques.

3.6.1 Evaluation

Le village de Bancoumana est divisé en 4 blocs. Dans chacun des blocs « A » et « D » qui sont les plus larges, quatre thermomètres (type HOBO Programmables) ont été placés dans les cases à raison de deux thermomètres dans les cases en tôles et deux dans les cases en pailles. Dans les blocs « B » et « C » qui sont considérés comme des petits blocs, un thermomètre est placé dans une case de chaque type. A la fin de la mission les données sont déchargées dans les "shuttles" ou relais avec mémoire, puis transférées à l'ordinateur pour stockage et analyse (*cf. Photo ci-dessous*).

Fig 6: Technique de transfert des données de température et de l'humidité des HOBO à l'ordinateur et l'image d'un ookinète sur l'écran



Source : MRTC – DEAP – FMPOS , Section GIS/RS

4. RESULTATS

4. RESULTATS

4.1 Sporogonie naturelle:

4.1.1 Taux d'infection en Macrogamètes:

Tableau I: Les taux mensuels d'infection pour macrogamètes de juin 1999 à décembre 2000 après lecture microscopique des gouttes épaisses effectuées à partir des repas de sang des moustiques capturés par aspirateur à bouche entre 5h et 6h 30mn dans les habitations humaines du village de Bancoumana.

Périodes	Nb traité	Nb Positif	Taux d'infection%
Juin 99	19	1	5.2
Juillet 99	129	0	0
Août 99	147	0	0
Sept 99	160	1	0.6
Oct 99	97	3	3.1
Nov 99	24	0	0
Déc 99	2	0	0
Juin 00	36	0	0
Juillet 00	55	3	5.45
Août 00	100	1	1
Sept 00	112	0	0
Oct 00	56	0	0
Nov 00	13	0	0
Déc 00	3	0	0
Total	953	9	0.94

Il ressort de l'analyse du tableau I que le taux d'infection moyen pour macrogamète est de **0.94%** (n=953) entre juin 1999 et décembre 2000. Le taux maximum a été observé en Juillet 2000 (**5.45%**).

Tableau II : Variation du taux d'infection en **macrogamètes** de juin 99 à décembre 2000 à Bancoumana en fonction de la période d'étude.

Périodes	Nb traité	Nb Positif	Taux infection. %
Juin 99 -00 Juillet99 -00	239	4	1.67
Aout99-00	247	1	0.40
Sept99-00 Octob99-00	425	4	0.94
Novemb 99-00 Décemb 99-00	42	0	0
Total	953	9	0.94

L'analyse du tableau II nous révèle que les taux d'infection en macrogamète au début de la saison de pluie (1.67% n=239), en milieu de saison de pluie (0.40% n= 247) et en fin de saison de pluie (0.94% n= 425) ne diffèrent pas significativement ($X^2=2.02$, $ddl=2$, $P= 0.364$). Quelle que soit l'année et la période d'étude considérées, le taux d'infection en macrogamète pendant la saison sèche reste nul (n=42).

NB :- (Juin 99-00 = Juin 1999 et Juin 2000

Juillet99-00= Juillet 1999 et Juillet 2000) = **Avant hivernage**

- Août 99-00= Aout 1999 et Août 2000 = **Hivernage**

-(Sept 99-00= Sept 1999 et Sept 2000

Oct 99-00= Oct 1999 et Oct 2000) = **Fin hivernage**

-(Nov 99-00= Nov 1999 et Nov 2000

Dec 99-00= Dec 1999 et Dec 2000) = **Saison sèche froide**

4.1.2 Taux d'infection en ookinètes:

Tableau III: Les taux mensuels d'infection pour ookinètes de juin 1999 à décembre 2000 après la lecture microscopique des gouttes épaisses effectuées à partir des repas de sang des moustiques capturés de 8 h à 10h par aspirateur à bouche dans les habitations humaines du village de Bancoumana.

Périodes	Nb traité	Nb positif	Taux d'infection%
Juin 99	9	0	0
Juillet 99	146	0	0
Août 99	140	0	0
Sept 99	139	1	0.72
Oct 99	57	0	0
Nov 99	6	0	0
Déc 99	0	0	0
Juin 00	60	2	3.33
Juillet 00	80	1	1.25
Août 00	220	0	0
Sept 00	108	2	1.85
Oct 00	94	3	3.19
Nov 00	8	0	0
Déc 00	1	0	0
Total	1068	9	0.84

Il ressort de l'analyse du tableau III que le taux d'infection moyen pour ookinète est **0.84%** (n=1068) de juin 1999 à décembre 2000. Cependant nous n'avons observé qu'un seul cas d'infection en ookinète en 1999.

Tableau IV: Variation du taux d'infection en ookinètes de Juin 99 à Décembre 2000 à Bancoumana en fonction de la période d'étude.

Périodes	Nb traité	Nb Positif	Taux d'infection%
Juin 99-00			
Juillet 99-00	295	3	1.01
Août 99-00	360	0	0
Sept 99-00			
Octobre 99-00	398	6	1.50
Nov 99-00			
Déc 99-00	15	0	0
Total	1068	9	0.84

L'analyse du tableau IV nous indique que le taux d'infection en ookinète ne présente pas de variation significative entre les périodes : Avant hivernage, hivernage et la fin de la saison de pluie ($P= 0.739$, Test exact de **Fisher**). Cependant les taux d'infection en ookinète pendant et hivernage et en saison sèche sont nuls.

Tableau V: Répartition des taux d'infections et charges en ookinètes en fonction du type de cases de juin 1999 à décembre 2000 chez les moustiques capturés par aspirateur à bouche dans les habitations humaines de Bancourmana.

Mois	Pailles				Tôles			
	Nb traité	Nb positif	Charges	Taux infec%	Nb traité	Nb positif	Charges	Taux infec%
Juin 99	7	0	0	0	2	0	0	0
Juillet 99	113	0	0	0	33	0	0	0
Août 99	99	0	0	0	41	0	0	0
Sept 99	118	1	0.016	0.84	21	0	0	0
Oct 99	43	0	0	0	14	0	0	0
Nov 99	3	0	0	0	3	0	0	0
Déc 99	0	0	0	0	0	0	0	0
Juin 00	46	1	0.021	2.17	14	1	0.071	7.1
Juillet 00	76	1	0.013	1.31	4	0	0	0
Août 00	187	0	0	0	33	0	0	0
Sept 00	77	2	0.026	2.59	31	0	0	0
Octob 00	85	3	0.035	3.52	9	0	0	0
Nov 00	6	0	0	0	2	0	0	0
Déc 00	1	0	0	0	0	0	0	0
Total	861	8	0.008	0.92	207	1	0.004	0.48

Le taux d'infection en ookinète *d'An. gambiae* observé dans les cases en pailles (8/ 861) n'est pas significativement différent de celui observé dans les cases en tôles (1 /207) [**P=0.45**, test exact de **Fischer**]. De même la différence n'est pas significative entre les charges en ookinète dans les deux types de cases ($X^2 =17.13$, **ddl=12**, **P=0.14**)[**Pearson**].

4.1.3 Taux d'infection en Oocyste:

Tableau VI: Taux mensuel d'infection en oocyste de juin 1999 à décembre 2000 déterminé par microscopie après dissection des anophèles femelles capturées par aspirateur à bouche sur appâts humains entre 18h et 6h du matin dans les habitations humaines de Bancoumana.

Mois	Nb traité	Nb positif	Taux d'infection
Juin 99	14	0	0
Juillet 99	434	12	02.7
Août 99	1000	5	0.5
Sept 99	807	19	02.3
Oct 99	421	17	4.00
Nov 99	42	0	0
Déc 99	4	0	0
Juin 00	32	0	0
Juillet 00	116	2	1.7
Août 00	816	6	0.7
Sept 00	283	3	1.00
Oct 00	124	14	11.00
Nov 00	19	0	0
Déc 00	6	0	0
Total	4 118	78	1.89

Le tableau VI révèle que le taux d'infection en oocyste est de **1.89%** (n= 4118) de juin 1999 à décembre 2000. Le taux d'infection en oocyste le plus élevé a été observé en octobre 2000 (11% n= 124). Il y a une différence statistique significative entre les mois quant aux taux d'infection en oocyste (X^2 de Pearson =79,04, ddl=12, P=0.0022)

Tableau VII: Variation du taux d'infection en oocyste en fonction de la période d'étude de juin 1999 à décembre 2000 à Bancoumana.

Périodes	Nb traité	Nb Positif	Taux d'infection%
Juin 99-00			
Juillet 99-00	596	14	2.34
Aout 99-00	1816	11	0.6
Sept 99-00			
Oct 99-00	1635	53	3.24
Nov 99-00			
Déc 99-00	71	0	0
Total	4 118	78	1.89

Il ressort de l'analyse de ce tableau qu'il y a une différence significative entre le taux d'infection pour oocyste entre les les periodes : Avant hivernage, hivernage, la fin de l'hivernage et la saison sèche humide (X^2 de Pearson =32.75, ddl=3, $P < 10^{-3}$). Ici aussi, le taux d'infection en oocyste reste nul en saison sèche (n=71).

4.1.4 Taux d'infection en Sporozoïtes

Tableau VIII: Taux mensuels d'infection en sporozoïte de juin 1999 à décembre 2000 déterminés par ELISA sur les moustiques capturés par "Spray-catch" dans les habitations humaines de Bancoumana.

Périodes	Nb traité	Nb positif	Taux d'infection%
Juin 99	289	2	0.6
Juillet 99	908	14	1.5
Août 99	1360	0	0
Sept 99	1175	14	1.2
Oct 99	883	31	3.5
Nov 99	86	7	8.1
Déc 99	23	0	0
Juin 00	435	21	4.8
Juillet 00	773	14	1.8
Août 00	2136	20	0.9
Sept 00	1202	58	4.8
Oct 00	667	68	10.2
Nov 00	113	6	5.3
Déc 00	28	0	0
Total	10 078	255	2.53

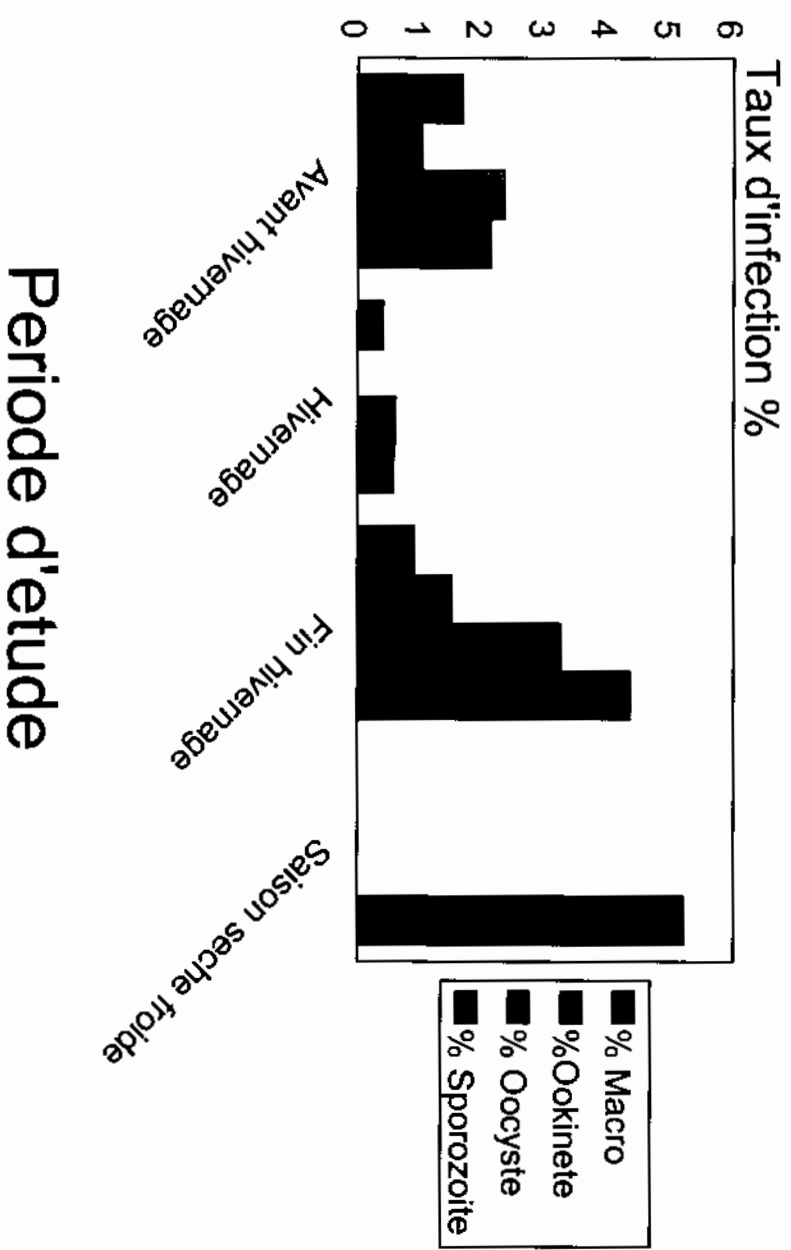
Le taux d'infection en sporozoïte pendant la période d'étude allant de juin 1999 à décembre 2000 est de (2.53% n=10 078), avec un maximum observé au mois d'octobre 2000 (10.2%). Il existe une différence statistique significative entre les mois de juin à décembre 1999 ($X^2=71.81$, $ddl=6$, $P << 0.001$); cette même différence est aussi observée entre les mois d'étude de l'année 2000 ($X^2= 133.53$, $ddl=6$, $p << 0.001$).

Tableau IX: Variation du taux d'infection en sporozoïtes en fonction de la période d'étude de juin 1999 à décembre 2000 dans le village de Bancoumana.

Périodes	Nb traité	Nb Positif	Taux d'infec%
Juin 99-00			
Juillet 99-00	2405	51	2.12
Août 99-00	3496	20	0.57
Sept 99-00			
Oct 99-00	3927	171	4.35
Nov 99-00			
Déc 99-00	250	13	5.2
Total	10 078	255	2.53

Il ressort de l'analyse de ce regroupement que les taux d'infection sporozoïtique observés en début de saison, en milieu, en fin de saison et en saison sèche humide était significativement différents. (X^2 de Pearson = 116.20, ddl = 3, $P < 10^{-3}$)

Fig 4: Variation saisonniere du taux d'infection des differents stades de developpement sporogonique de *P. falciparum* chez *An. gambiae* de Juin 1999 a Decembre 2000 a Bancoumana



4.2 Etude de la transmission

4.2.1 Composition vectorielle:

Tableau X: Composition de la faune anophelienne à Bancoumana à partir des captures de nuit sur appâts humains "landing-catch" et des captures de jour au pyréthre dans les habitations "Spray-catch" de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	<i>An. gambiae</i>		<i>An. funestus</i>		Total
	Nbre	%	Nbre	%	
Juin 99	288	100	0	0	288
Juillet 99	3411	99.9	3	0.087	3414
Août 99	4972	99.97	1	0.020	4973
Sept 99	3104	98.32	53	1.67	3157
Oct 99	1510	97.8	34	2.2	1544
Nov 99	140	93.3	10	6.7	150
Déc 99	23	85.2	4	1.5	27
Juin 00	528	100	0	0	528
Juillet 00	919	100	0	0	919
Août 00	3521	100	0	0	3521
Sept 00	1374	98.9	14	1.1	1388
Oct 00	528	94.6	30	5.4	558
Nov 00	143	91.1	14	8.9	157
Déc 00	35	97.22	1	2.78	36
Total	20 495	99.20	164	0.80	20.659

L'analyse du tableau X montre qu'*An. gambiae s.l.* et *An. funestus* sont les principaux vecteurs du paludisme à Bancoumana. La fréquence de *An. gambiae s.l.* (99.20%) est 125 fois plus élevée que celle d'*An. funestus* (0.80%). Cette différence est maximale en Août, Juillet et Juin 2000 et minimale en Novembre 2000 où la fréquence d'*An. funestus* atteint 8.9%.

Tableau XI: Fréquence d' *An. gambiae* s.s et d'*An. arabiensis* à Bancoumana après identification à la PCR des moustiques capturés au "Spray-catch", Capture de nuit et à l'aspirateur à bouche à Bancoumana de juin 1999 à décembre 2000

Périodes	<i>An. gambiae</i> ss		<i>An. arabiensis</i>		Total
	Nbre	%	Nbre	%	
Juin 99	157	95.15	8	4.85	165
Juillet 99	238	99.58	1	0.42	239
Août 99	323	99.07	3	0.93	326
Sept 99	217	99.54	1	0.46	218
Oct. 99	262	94.58	15	5.42	277
Nov. 99	85	97.70	2	2.30	87
Déc. 99	7	70	3	30	10
Juin 00	388	98.98	4	1.02	392
Juillet 00	734	99.59	3	0.41	737
Août 00	2140	99.72	6	0.28	2146
Sept 00	1138	98.70	15	1.30	1153
Oct. 00	526	92.12	45	7.88	571
Nov. 00	100	89.29	12	10.71	112
Déc. 00	22	88.00	3	12.00	25
Total	6337	98.12	121	1.88	6458

Il ressort de l'analyse du tableau XI que la fréquence d' *An. gambiae* s.s (98.12% n= 6458) est plus élevée que celle d' *An. arabiensis* (1.88%) de juin 1999 à décembre 2000. Cette différence est maximale en août 2000 (99.72%) et minimale en décembre 1999 où la fréquence d' *An. arabiensis* atteint 30%.

4.2.2 Densité:

Tableau XII: La densité moyenne d'*An. gambiae s.l.* par case à partir du PSC « pyrethrinoid-spray-catch » à Bancoumana de juin 1999 à décembre 2000.

Periodes	Nb de moust	Nb de cases	Densités moy	Std
Juin 99	286	179	1.60	0.217
Juillet 99	2753	178	15.47	1.782
Août 99	3315	175	18.94	3.022
Sept 99	1758	178	9.88	1.892
Oct 99	856	181	4.73	0.548
Nov 99	102	179	0.57	0.098
Déc 99	20	181	0.11	0.027
Juin 00	496	87	5.70	0.662
Juillet 00	742	80	9.27	1.812
Août 00	2151	68	31.63	4.64
Sept 00	995	94	10.59	1.323
Oct 00	471	99	4.76	0.620
Nov 00	121	107	1.13	0.132
Déc 00	25	68	0.19	0.052
Total	14 091	1916	7.35	0.455

Il ressort de l'analyse du tableau XII que la densité moyenne mensuelle par case d' *An. gambiae s.l.* était de 7.35 moustiques. Le pic de densité a été observé en Août 2000 (31.63) et la plus faible densité en Décembre 1999 (0.11)

Le test de Kruskalis. Wallis nous indique qu'il existe une différence significative entre les densités moyennes mensuelles ($H= 647.07, P < 10^{-3} \text{ ddl}=13$).

Tableau XIII : Variation saisonnière de la densité moyenne d'*Anopheles gambiae* de Juin 1999 à Décembre 2000 dans le village de Bancoumana.

Periodes	Densité moy.	Nb de moust.	Std
Juin 99-00	8.16	524	0.723
Juillet 99-00			
Août 99-00	22.49	243	2.556
Sept 99-00	7.39	552	0.692
Oct 99-00			
Nov 99-00	0.45	597	0.043
Déc 99-00			
Total	7.35	1916	0.455

Il ressort de l'analyse de ce regroupement qu'il y a une différence significative en densité moyenne entre les périodes : Avant hivernage (8.16) et hivernage (22.49), la fin de l'hivernage (7.39) et la saison sèche fraîche (0.45). ($H=500.354$, $ddl=3$, $P < 10^{-3}$).

Tableau XIV: La densité moyenne d' *An gambiae sl* dans les cases en toit de tôles et dans les cases en toit de pailles à Bancoumana à partir du PSC de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	Cases en Tôles				Cases en Pailles			
	Nb de moust	Nb de cases	Densité Moy	Sd	Nb de moust	Nb de cases	Densité Moy	Sd
Juin 99	98	84	1.17	0.194	188	95	1.98	0.368
Juillet99	696	81	9.26	1.74	1994	96	20.77	2.845
Août 99	702	83	8.46	1.70	2613	92	28.40	5.36
Sept 99	329	82	4.01	1.146	1429	96	14.89	3.292
Oct 99	223	85	2.62	0.536	630	95	6.59	0.878
Nov 99	27	84	0.32	0.064	75	95	0.79	0.173
Déc 99	10	81	0.12	0.046	10	95	0.10	0.031
Juin 00	81	33	2.45	0.613	403	53	7.60	0.914
Juillet00	110	19	5.79	1.54	632	61	10.36	2.315
Août 00	145	19	7.63	1.78	1997	48	41.60	5.99
Sept 00	140	28	5.00	1.038	855	66	12.95	1.75
Oct 00	107	32	3.34	0.899	364	67	5.43	0.800
Nov 00	34	30	1.13	0.266	87	77	1.13	0.153
Déc 00	4	51	0.08	0.055	21	79	0.27	0.078
Total	2704	707	3.82	0.83	11 296	1261	8.95	1.78

L'analyse du tableau XIV nous indique qu'il y a une différence significative entre les densités moyennes dans les cases en Paille et celles des cases en tôles de juin 1999 à décembre 2000 ($H= 89.01$, $ddl= 1$, $P < 10^{-3}$)

4.2.3 L'agressivité:

Tableau XV: Nombre moyen de piqûres par homme et par mois d'*An. gambiae* sl à Bancoumana de juin 1999 à décembre 2000 à partir des « Spray-catches ».

Périodes	Nb de dorm	Nb de moust	m.a p/h/mois	Std
Juin 99	737	286	8.01	15.57
Juillet 99	707	2753	78	130.47
Août 99	712	3315	142.8	333.15
Sept 99	737	1758	67.92	231.87
Oct 99	725	856	30.51	54.66
Nov 99	739	102	3.45	10.2
Déc 99	761	20	0.42	2.04
Juin 00	360	496	30.6	50.7
Juillet 00	359	742	45.3	76.5
Août 00	297	2151	163.2	252
Sept 00	416	995	46.5	62.4
Oct 00	431	471	27	76.8
Nov 00	475	121	4.5	7.77
Déc 00	607	25	1.05	3.78
Total	8063	14 091	43.71	149.31

Il ressort de l'analyse du tableau XV que l'agressivité moyenne d'*An. gambiae* était **1.45 p/h/nuît** de juin 1999 à décembre 2000. Le maximum de piqûres a été observé en août 2000 (**ma=5.44 p/h/nuît**). Le minimum a été observé en décembre 99 (**ma=0.014 p/h/nuît**). Cette agressivité moyenne diffère significativement d'un mois à un autre de juin 1999 à décembre 2000 (**H= 587.99, ddl=13, P<10⁻³**).

Tableau XVI: l'agressivité moyenne mensuelle d'*An gambiae sl* à l'intérieur et à l'extérieur des cases à partir des captures de nuit de juin 1999 à décembre 2000 à Bancoumana.

Périodes	Intérieur		Extérieur		Moyenne (int+ ext)	
	Moy	Sd	Moy	Sd	Moy	Sd
Juin 99	1.87	5.28	4.68	7.7	3.27	6.49
Juillet 99	196.87	269.03	133.12	156.9	164.99	212.96
Août 99	489.37	162.11	337.97	145.78	413.67	153.94
Sept 99	327.18	113.23	295.31	167.97	311.24	140.6
Oct 99	126.56	184.7	129.37	129	127.96	156.85
Nov 99	2.81	5.57	14.06	21.28	8.43	13.42
Déc 99	1.87	4	0.0	0.0	0.93	2
Juin 00	9.37	10.95	6.37	6.22	7.87	8.58
Juillet 00	38.43	29.25	35.25	24	36.84	26.62
Août 00	318.26	125.625	355.31	184.5	336.78	155.06
Sept 00	85.31	105.75	92.25	67.12	88.78	86.43
Oct 00	42	14.62	54.5	41.66	48.25	28.14
Nov 00	3	5.25	5.25	7.87	4.12	6.56
Déc 00	2.81	6.56	0.45	1.31	1.63	3.93
Total	235.10	74.42	104.56	68.66	169.83	71.54

Il ressort de l'analyse du tableau XVI que l'agressivité moyenne à l'intérieur ($m.a=235.10$) est plus élevée que celle à l'extérieur de la case ($m.a=104.56$) à Bancoumana de juin 1999 à décembre 2000. L'agressivité maximale a été observée en août à l'intérieur. Pendant notre période d'étude, *An. gambiae* s'est révélé plus endophage qu'exophage avec un coefficient de 0.44.

4.2.4 La parité:

Tableau XVII: Taux de parité d'*An gambiae s.l.* à Bancoumana à partir des captures de nuit de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	Nb de moust disséq	Nb de moust Pares	Taux de parité %
Juin 99	14	10	71.4
Juillet 99	434	274	63.1
Août 99	1000	922	92.2
Sept 99	807	587	72.7
Oct 99	421	415	98.6
Nov 99	42	40	95.2
Déc 99	4	4	100
Juin 00	32	31	96.8
Juillet 00	116	114	98.2
Août 00	816	792	97.1
Sept 00	283	281	99.2
Oct 00	124	108	87.1
Nov 00	19	19	100
Déc 00	6	5	83.3
Total	4118	3602	87.46

Le tableau XVII nous indique que le taux de parité d'*An. gambiae s.l.* est de **87.46%** (n=4118) à Bancoumana de juin 1999 à décembre 2000. Le taux le plus élevé a été observé en décembre (100% n=19) et le minimum en Juin 1999 (71.4% n=14).

Tableau XVIII : Répartition saisonnière du taux de parité d'*An gambiae* s.l. à Bancoumana à partir de capture de nuit de Juin 1999 à Décembre 2000.

Périodes	Nb traité	Nb pares	Taux parité
Juin 99-00			
Juillet 99-00	596	429	71.9
Août 99-00	1816	1714	94.38
Sept 99-00			
Oct 99-00	1635	1391	85.07
Nov 99-00			
Déc 99-00	71	68	95.7
Total	4118	3602	87.46

Il ressort de l'analyse de ce tableau qu'il y a une différence significative des taux de parité entre les périodes : Avant hivernage (71.9%, n=596), hivernage (94.38%), la Fin de l'hivernage (85.07%, n= 1635) et la saison sèche humide (95.7 n=71).

(X^2 de Pearson =222.68, ddl=3, $P<10^{-3}$)

4.2.5 Taux d'inoculation entomologique (h):

Tableau XVIV: Taux d'inoculation entomologique à Bancourmana de juin 1999 à décembre 2000 après capture de nuit sur appâts humains.

Périodes	ma	IS	h
Juin 99	3.27	0	0
Juillet 99	164.99	0.024	3.95
Août 99	413.67	0.004	1.65
Sept 99	311.24	0.007	2.17
Oct 99	127.96	0.048	6.14
Nov 99	8.43	0.15	1.26
Déc 99	0.93	0	0
Juin 00	7.87	0.06	0.47
Juillet 00	36.84	0.052	1.91
Août 00	336.78	0.008	2.69
Sept 00	88.78	0.067	5.94
Oct 00	48.25	0.12	5.79
Nov 00	4.12	0.11	0.45
Déc 00	1.63	0	0
Total	111.05	0.046	5.10

L'analyse du tableau XVIV nous révèle que le taux d'inoculation entomologique moyen mensuel à Bancourmana s'élève à **5.10** piqûres infestantes par mois et par homme.

Le taux d'inoculation maximal a été observé en octobre 1999 (**h=6.14**) et le plus faible en décembre (**h = 0**)

Tableau XX: Répartition saisonnière de taux d'inoculation entomologique à Bancoumana à partir de la capture de nuit sur appât humain de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	ma	Is	h
Juin 99-00			
Juillet 99-00	53.24	0.034	1.81
Août 99-00	375.22	0.006	2.25
Sept 99-00			
Oct 99-00	144.05	0.242	34.86
Nov 99-00			
Déc 99-00	3.77	0.065	0.245
Total	111.05	0.046	5.10

Il ressort de l'analyse de ce regroupement que le taux maximal d'inoculation entomologique a été observé en fin de saison de pluie (**h=34.86**) de juin 1999 à décembre 2000.

Fig 8: Variation saisonniere des parametres entomologiques de la transmission de *P. falciparum* de Juin 99 a Decembre 2000 dans le village de Bancoumana

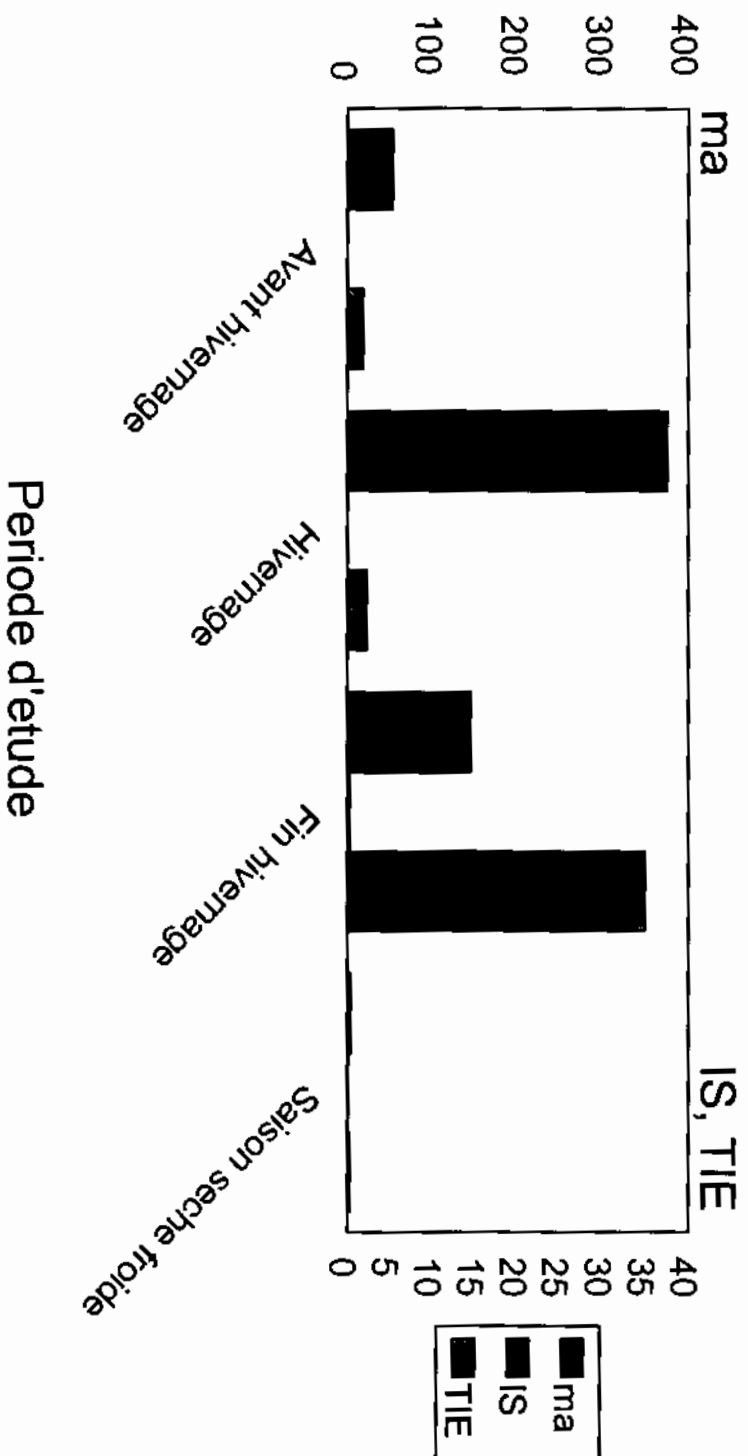


Tableau XXI: Taux d'inoculation entomologique à Bancoumana de juin 1999 à décembre 2000 à partir de « Spray-catch »

Périodes	ma	IS	h
Juin 99	8	0.006	0.048
Juillet 99	76.7	0.015	1.15
Août 99	142.9	0	0
Sept 99	67.9	0.012	0.81
Oct 99	30.6	0.035	1.07
Nov 99	3.5	0.081	0.28
Déc 99	0.5	0	0
Juin 00	27	0.042	1.134
Juillet 00	48	0.009	0.43
Août 00	75	0.002	0.15
Sept 00	51	0.048	2.44
Oct 00	30.3	0.103	3.12
Nov 00	6	0.033	0.19
Déc 00	0.9	0	0
Total	40.59	0.027	1.12

Le tableau XXI nous révèle que le taux d'inoculation entomologique moyen s'élève à 1.12 piqûres infestantes par mois et par homme. Le pic a été observé en octobre 2000 ($h=3.12$) et le plus faible taux a été observé en août et aux mois de décembre ($h=0$)

Tableau XXII : Répartition saisonnière des taux d'innoculation entomologique à Bancoumana à partir de « Spray-catch » de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	ma	IS	h
Juin 99-00	39.92	0.018	0.718
Juillet 99-00			
Août 99-00	108.95	0.001	0.108
Sept 99-00	44.95	0.049	2.22
Octob 99-00			
Nov 99-00	2.72	0.028	0.077
Déc 99-00			
Total	40.59	0.027	1.12

Il ressort de l'analyse de ce regroupement que le taux maximal d'innoculation entomologique a été observé en fin de saison de pluie ($h=2.22$) de juin 1999 à décembre 2000.

4.3 Sporogonie Expérimentale

4.3.1 Paramètres parasitologiques

Tableau XXIII: Les indices plasmodique et gamétocytaire par mois après la lecture des gouttes épaisses les sujets âgés de moins de 18 ans à Bancoumana.

Périodes	G.E	IP	IG
Juin 99	210	26.19	6.19
Juillet 99	206	36.89	9.7
Août 99	113	40	15.04
Sept 99	122	32.78	10.65
Oct 99	225	41.33	8.44
Nov 99	80	40	6.25
Déc 99	222	33.78	9.9
Juillet 00	235	35.7	6.38
Aout 00	128	40.62	9.37
Sept 00	203	42.36	12.8
Oct 00	224	41.07	8.48
Nov 00	-	-	-
Déc 00	324	32.53	5.80
Total	2292	36.93	9.08

IP= indice plasmodique

IG= indice gamétocytaire

Il ressort de l'analyse du tableau XXIII que l'indice gamétocytaire moyen était de **9.08%** de juin 1999 à décembre 2000. L'indice le plus élevé a été observé en août 1999 (**15.04%**). L'analyse statistique de ce tableau nous révèle qu'il existe une différence significative ($P < 10^{-3}$) entre l'indice plasmodique (**36.93%**) et l'indice gamétocytaire (**9.08**) [X^2 de Pearson = 504.31, ddl=1, $P < 10^{-3}$]

4.3.2 Macrogamète:

Tableau XXIV: Taux d'infection pour macrogamète chez les femelles d'*An. gambiae s.l.* élevées à l'insectarium et gorgées sur les porteurs de gamétocytes entre juin 1999 et décembre 2000.

Périodes	Total examiné	Nb Positives	Taux d'inf. %
Juin 99	48	0	0
Juillet 99	48	0	0
Août 99	-	-	-
Sept 99	24	2	8.3
Oct 99	47	1	2.1
Nov 99	22	7	31.8
Déc 99	33	1	3
Juin 00	-	-	-
Juillet 00	31	0	0
Août 00	16	0	0
Sept 00	16	2	12.5
Oct 00	16	0	0
Nov 00	8	0	0
Déc 00	24	0	0
Total	333	13	3.9

L'analyse du tableau XXIV nous révèle que le taux d'infection en macrogamète est de 3.9% de juin 1999 à décembre 2000. Le taux maximum a été observé en novembre 1999 (31.8).

Tableau XXV : Repartition saisonnière du taux d'infection pour macrogamète chez les *An. gambiae* élevés à l'insectarium de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	Nb traité	Nb Positif	Taux d'inf. %
Juin 99-00	127	0	0
Juillet 99-00			
Août 99-00	16	0	0
Sept 99-00	103	5	4.85
Oct 99-00			
Nov 99-00	87	8	9.19
Déc 99-00			
Total	333	13	3.9

Il ressort de l'analyse du tableau XXV que la différence n'est pas significative pour les taux d'infections en macrogamète entre la fin de la saison de pluie et la saison sèche humide (X^2 de Yates=0.80, P= 0.37).

4.3.3 Ookinète

Tableau XXVI Taux d'infection pour ookinète après dissection des anophèles élevées à l'insectarium et gorgées sur les porteurs de gamétocytes de juin 1999 à décembre 2000 au Laboratoire.

Périodes	Total examiné	Positives	Taux d'infec%
Juin 99	48	0	0
Juillet 99	48	0	0
Août 99	-	-	-
Sept 99	17	5	29.41
Oct 99	39	0	0
Nov 99	24	9	37.5
Déc 99	69	3	4.3
Juin 00	-	-	-
Juillet 00	32	3	9.3
Août 00	16	0	0
Sept 00	16	2	12.5
Oct 00	16	0	0
Nov 00	8	0	0
Déc 00	24	0	0
Total	357	22	6.16

L'analyse du tableauXXVInous révèle que le taux d'infection en ookinète est de **6.16%** de juin 1999 à décembre 2000.

Tableau XXVII : Répartition saisonnière des taux d'infection pour ookinètes chez les Anophèles élevés dans les conditions de l'insectarium

Périodes	Nb traité	Nb Positif	Taux d'infection. %
Juin 99-00			
Juillet 99-00	128	3	2.3
Août 99-00	16	0	0
Sept 99-00			
Oct 99-00	88	7	7.9
Nov 99-00			
Déc 99-00	125	12	9.6
Total	357	22	6.16

Il ressort de l'analyse de ce regroupement que le taux d'infection pour ookinète diffère peu significativement entre les périodes : Avant Hivernage et la fin de l'Hivernage et la saison sèche froide (X^2 de Pearson=5.96, ddl=2, $P < 0.05$).

4.3.4 Oocyste

Tableau XXVIII : Taux d'infection pour oocyste après dissection des anophèles élevés à l'insectarium et gorgés sur les porteurs de gamétocytes de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	Total traité	N.positif	Taux d'inf.%
Juin 99	96	9	9.4
Juillet 99	106	21	19.8
Août 99	360	70	19.4
Septemb 99	191	51	26.7
Octob 99	363	31	8.5
Nov 99	228	135	59.2
Déc 99	565	65	11.5
Juin 00	-	-	-
Juillet 00	460	105	22.8
Août 00	466	7	1.5
Sept 00	489	104	21.26
Oct 00	109	78	71.55
Nov 00	178	15	8.4
Déc 00	769	85	11.05
Total	4380	776	17.71

L'analyse du tableau IX nous révèle que le taux d'infection en oocyste est 17.71% de Juin 1999 à décembre 2000 sur 4380 moustiques disséqués. Le taux maximum a été observé en octobre 2000 (71.55%) et le minimum a été observé en août 2000 (1.5%).

Tableau XXIX : Répartition du taux d'infection pour oocyste chez les *anophèles gambiae* s.l. élevés dans les conditions de laboratoire de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	Nbre traité	Nb Positif	Taux d'infec%
Juin 99-00			
Juillet 99-00	662	135	20.39
Août 99-00	826	77	9.32
Sept 99-00			
Oct 99-00	1152	264	22.91
Nov 99-00			
Déc 99-00	1592	300	18.84
Total	4380	776	17.71

Il ressort de l'analyse de ce tableau qu'il existe une différence significative des taux d'infection pour oocyste entre les périodes : Avant Hivernage, Hivernage, Fin Hivernage et la saison sèche humide (X^2 de Pearson = 63.11, ddl=3, $P < 10^{-3}$).

Le taux maximal d'infection a été observé en fin hivernage (22.91%) et le plus faible taux d'infection a été observé en hivernage (9.32%) .

4.4 Evaluation des facteurs environnementaux et leur influence sur la sporogonie.

4.4.1 Evaluation des facteurs environnementaux

Tableau XXX: Répartition mensuelle de la températures et de humidités moyennes relevées à partir des HOBO programmables placés dans les habitations humaines et les hauteurs de pluie à partir de la station de Bancoumana.

Paramètres mois	Hauteur pluie mm	T° moy °c	Std	HR moy. %	Std
Juin 99	108.7	29.33	0.888	63.33	3.962
Juillet 99	180.8	28.42	1.165	71.25	4.372
Août 99	459.8	27.58	0.900	77.17	3.215
Sept 99	188.1	28.17	0.577	72.92	3.232
Octob 99	74.3	29.33	1.231	66.83	4.469
Nov 99	00	32.75	12.069	51.33	8.414
Déc 99	00	27.58	1.165	42.33	14.525
Juin 00	125.8	30.00	0.853	62.75	3.519
Juillet 00	197.2	28.50	0.674	71.00	3.814
Août 00	329.4	31.75	12.069	68.58	13.021
Sept 00	84.4	28.92	0.793	70.17	3.563
Octob 00	33.6	29.83	1.115	61.92	5.583
Novemb 00	10.7	29.33	0.985	51.50	5.962
Déc 00	0	29.33	0.900	46.58	5.775
Total	128.05	29.33	4.678	62.69	12.297

Il ressort de ce tableau que la pluviométrie moyenne mensuelle est de 128.05, la température de 29.33 et l'humidité 62.69 % de juin 1999 à décembre 2000. L'analyse statistique révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les températures de juin 1999 à décembre 2000 (ANOVA, $P= 0.303$ et $F= 1.174$). Par contre, il existe une différence significative entre les humidités relatives (ANOVA, $P < 10^{-3}$ et $F=28.952$).

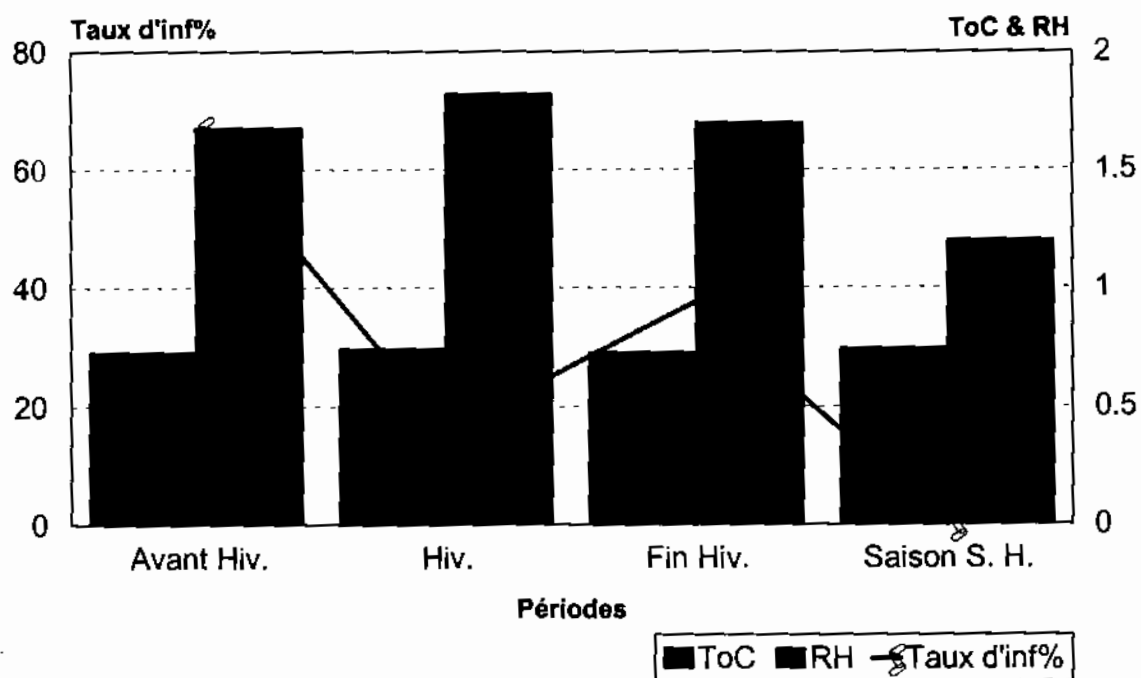
4.4.2 Influence des facteurs environnementaux sur la sporogonie

Tableau XXXII: Influence saisonnière de la variation climatique dans la nature sur le taux d'infection pour **macrogamètes** de juin 1999 à décembre 2000

Périodes	Pluies	T°	RH	Taux d'inf %
Avant Hiv	153.12	29.06	67.08	1.67
Hiv	394.6	29.66	72.87	0.40
Fin Hiv	95.1	29.06	67.96	0.94
Saison S H	2.67	29.74	47.93	0

L'L

Fig.7: Corrélation entre taux d'infection pour macrogamètes et facteurs environnementaux (Température et Humidité Relative).

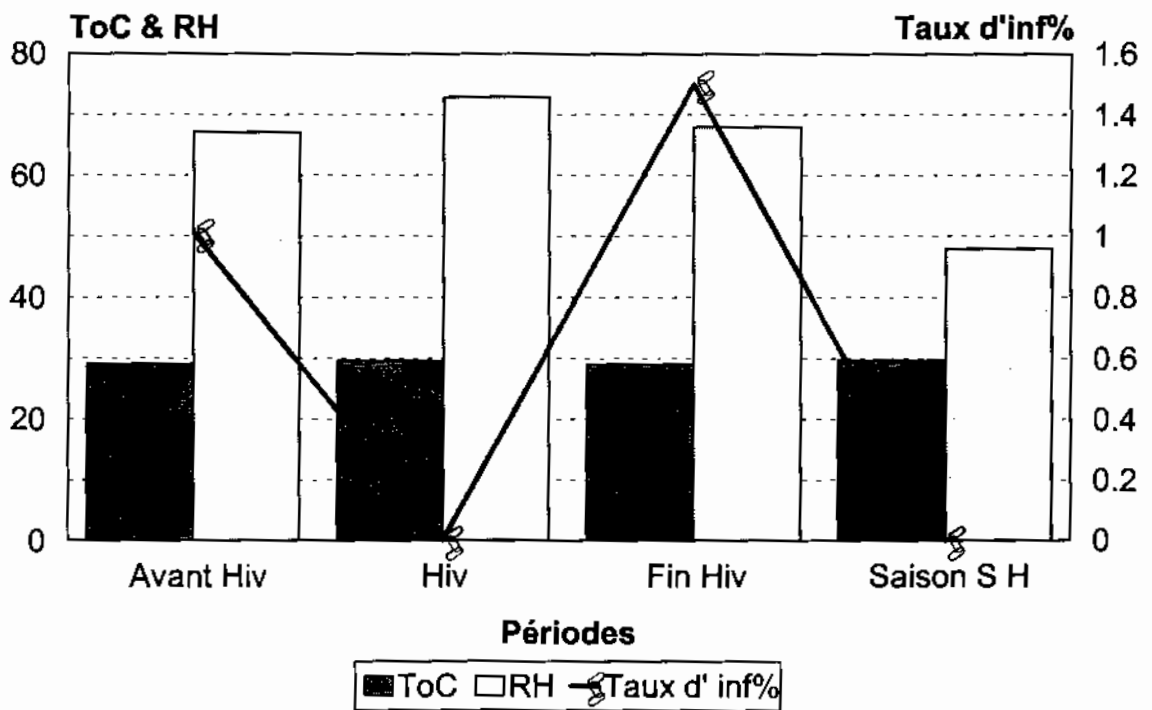


L'analyse de la Fig.7 nous révèle que le taux d'infection pour macrogamète diminue pendant l'hivernage quand la T°C et l'HR augmentent. Il augmente à la fin de l'hivernage quand celle-ci diminuent.

Tableau XXXIII: Influence saisonnière de la variation climatique dans la nature sur le taux d'infection pour *ookinète* de juin 1999 à décembre 2000

Périodes	Pluies	T°	RH	Taux d'inf %
Avant Hiv	153.12	29.06	67.08	1.01
Hiv	394.6	29.66	72.87	0
Fin Hiv	95.1	29.06	67.96	1.50
Saison S H	2.67	29.74	47.93	0

Fig 8: Correlation entre taux d'infection pour *Ookinète* et Facteurs environnementaux (Temperature et Humidité relative)

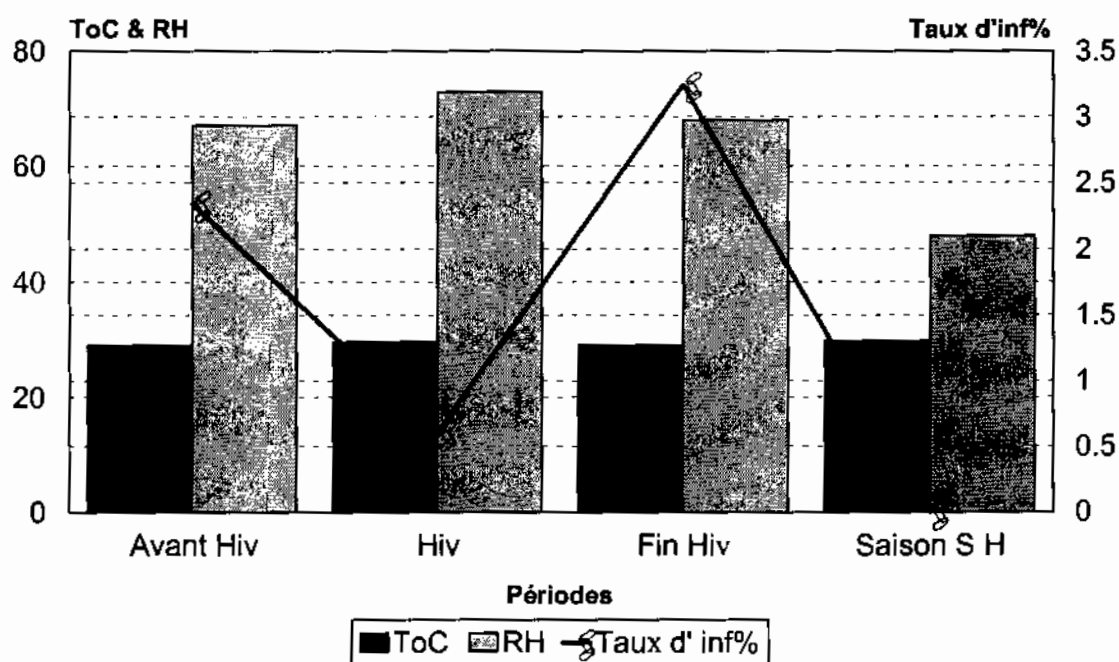


Les mêmes observations ont été faites par rapport à la Fig 8 pour le taux d'infection pour *ookinète*.

Tableau XXXIV: Influence saisonnière de la variation climatique dans la nature sur le taux d'infection pour oocyste de juin 1999 à décembre 2000.

Périodes	Pluies	T°	RH	Taux d'inf %
Avant Hiv	153.12	29.06	67.08	2.34
Hiv	394.6	29.66	72.87	0.6
Fin Hiv	95.1	29.06	67.96	3.24
Saison S H	2.67	29.74	47.93	0

Fig 9: Correlation entre taux d'infection pour Oocyste et Facteurs environnementaux (Température et Humidité relative)

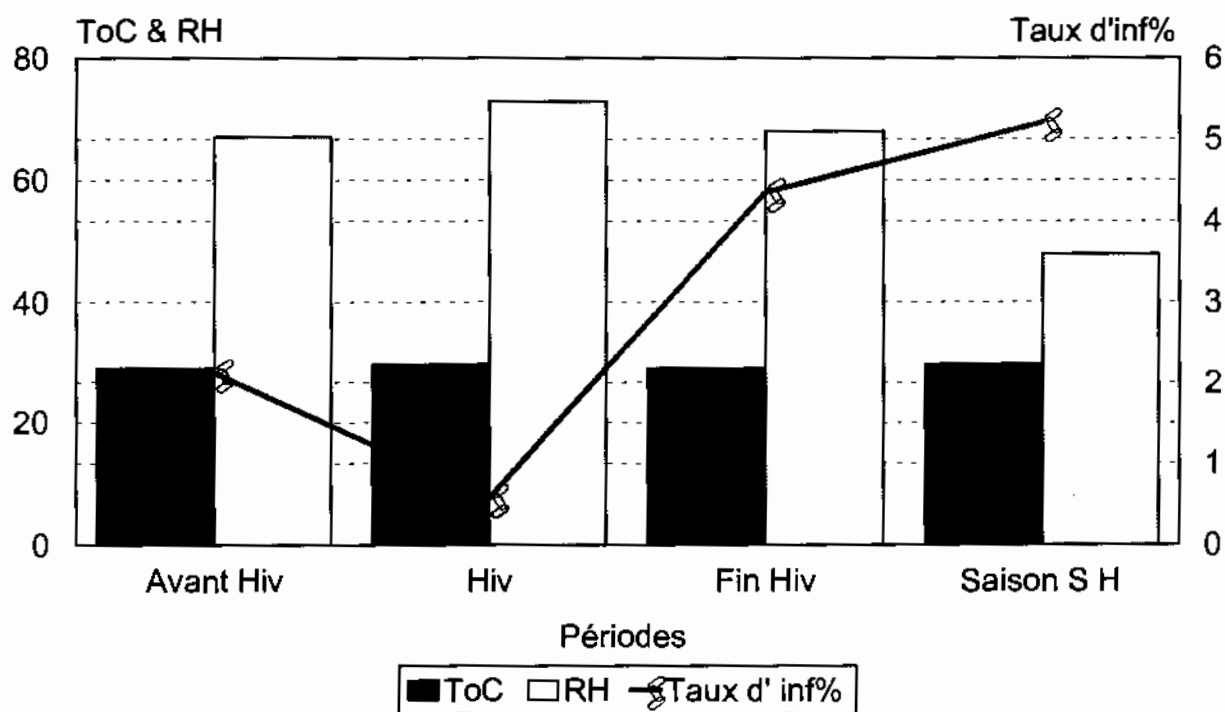


L'analyse de la Fig 9 nous révèle également que le taux d'infection pour oocyste diminue pendant l'hivernage quand la T°C et l'HR augmentent. Il augmente à la fin de l'hivernage quand celle-ci diminuent.

Tableau XXXV: Influence saisonnière de la variation climatique sur le taux d'infection pour Sporozoïte après traitement des moustiques à l'ELISA de juin 1999 à décembre 2000 à Bancoumana.

Périodes	Pluies	T°	RH	Taux d'inf %
Avant Hiv	153.12	29.06	67.08	2.12
Hiv	394.6	29.66	72.87	0.57
Fin Hiv	95.1	29.06	67.96	4.35
Saison S H	2.67	29.74	47.93	5.2

Fig 10: Correlation entre taux d'infection pour Sporozoïtes et Facteurs environnementaux (Temperature et Humiditérelative)



Les mêmes observations sont faites par rapport à la Fig 10 pour le taux d'infection pour sporozoïte.

Avant Hiv : Juin et Juillet 1999-2000 ; **Hiv :** Août 1999-2000 ;

Fin Hiv : Sept et Octobre 1999-2000 ; **Saison S. H :** Nov et Décemb 1999-2000

5.COMMENTAIRES ET DISCUSSION

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION:

Les résultats des études antérieures menées à Bancoumana, les étroites relations du laboratoire avec les notabilités du village qui n'ont ménagé aucun effort pour supporter l'équipe de recherche dans son travail, font de cette localité un site agréable pour une recherche multidisciplinaire sur le paludisme. La réalisation de l'étude a bénéficié de l'accord du comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. Grâce à l'accès facile du village du au bon état de la route nationale Bamako-Kankan, quelle que soit la saison, cette étude de la sporogonie et de la transmission a été effectuée par passages transversaux mensuels à l'échelle du village.

Sporogonie dans les conditions naturelles.

L'étude de la sporogonie dans les conditions naturelles est une première dans nos différentes zones d'études au Mali, c'est pourquoi nous avons réalisé la même étude dans les conditions de laboratoire pour servir de comparaison. L'étude de la phase sporogonique de développement de *Plasmodium falciparum* chez les moustiques du complexe *Anopheles gambiae* collectés par aspirateur à bouche dans la nature a permis de déterminer le taux d'infection moyen en macrogamète pour la période d'étude, en utilisant la technique classique de microscopie après coloration au Giemsa. Ce taux a été de 0.94%, et est largement faible par rapport à celui déterminé par Robert et al. en 1995 (77.2%) pour toutes les formes rondes associées (macrogamète, microgamète activé et zygote). Cette différence pourrait s'expliquer par la méthodologie utilisée notamment la microscopie simple dans notre cas, et la microscopie fluorescente dans l'étude de Robert et al (1995). Une autre explication pour ce faible taux observé, se situerait au niveau de la période de collection des moustiques naturels, entre 5h30 et 7h le matin dans notre étude alors que le pic d'agressivité d' *Anophèles gambiae* si se situe entre 3 h et 4 h du matin selon les études antérieures menées à Bancoumana (Bagayoko M, 1996).

Le taux naturel moyen d'infection en ookinète (0.84%) au terme de notre étude est 16 fois plus inférieur à celui observé par Robert et al (1995). De même, le taux naturel moyen d'infection en ookinète a été 7 fois plus inférieur que celui observé dans les conditions de laboratoire (6.16%) durant la même période.

Cette différence semble être attribuée à la microvariation perpétuelle de la température et de l'humidité relative dans la nature. Ce qui encore fait que nous avons aussi observé une différence des taux d'infection en ookinète entre les types de case (0.92% dans les cases en pailles contre 0.48% dans les cases en tôles). Le taux d'infection moyen en oocyste a été de 1.89% dans la nature (n = 4118) durant la période d'étude, et de 17.71% (n = 4380) au Laboratoire. Cette différence significative entre les conditions de terrain et le laboratoire pourrait s'expliquer par l'échantillonnage du fait que tous les moustiques infectés expérimentalement au laboratoire sont disséqués de façon exhaustive, alors que ceux du terrain sont collectés de façon aléatoire. Cependant, même dans les études antérieures menées dans le même village, il a été démontré que le taux naturel en oocystes est faible, autour de 5% (Bagayoko, 1996).

Composition et structure de la population vectrice.

Cette étude indique qu' *An. gambiae*.ss est le principal vecteur de paludisme humain dans la zone de Bancoumana avec une fréquence relative de 98.12% (n=6458). Les différentes méthodes de détermination de l'espèce et des formes chromosomiques par PCR et par cytogénétique ont montré une parfaite concordance de nos observations avec celles de Fontenille et al (1993) et de Bagayoko et al (1996).

Les faibles effectifs d' *Anopheles arabiensis* (1.88%) seraient liés à la forte hygrométrie observée pendant la période d'étude dans cette zone de savane sud-soudanienne, qui est défavorable au bon développement de cette espèce.

Les mêmes observations par rapport à *Anopheles arabiensis* ont été aussi faites par Touré et Petrarca en 1984. Selon ces auteurs, *An gambiae* ss s'observe essentiellement dans les zones humides du sud et au nord dans les zones plus sèches.

Biologie et écologie des populations vectrices

L'étude a montré que la densité et l'agressivité anophéliennes subissent des variations mensuelles significatives. Ces deux paramètres sont relativement faibles en début et en fin d'hivernage et très élevés en pleine saison pluvieuse.

Cette situation serait liée à la pluviométrie qui conditionne la mise en eau des gîtes larvaires et leur productivité. Nos observations sont conformes à celle de Hamon (1959), de Touré (1979) de Vincent (1990) et de Bagayoko (1996). Nous avons observé que la densité anophélienne est plus élevée dans les cases avec toit en paille que dans les maisons avec toit en tôle.

Cette différence réside dans le fait que les cases en pailles présentent de nombreux interstices entre la toiture et le mur servant de porte d'entrée aux anophèles, et que la paille sert de meilleur support de repos pour les anophèles que les toles. En plus, les cases en toit de paille semblent plus humides et moins chaudes que les maisons avec toit en tôle. Des observations similaires ont été faites par Touré (1979) à Banambani, Gamage-Mendis (1991) au Sri Lanka, Fondjo (1995) à Sélinkéni puis Bagayoko (1996) à Bancoumana.

L'étude a montré que les femelles d'*An gambiae s.l.* sont très anthropophiles et piquent pendant toute la nuit. L'agressivité maximale se situe à l'intérieur avec un coefficient d'endophagie (CE) de 0.44.

Les taux de parité très élevés en fin de saison de pluie seraient liés à une baisse de la productivité des gîtes larvaires et une augmentation de la longévité des anophèles.

• La transmission du paludisme à Bancoumana est continue de juin 1999 à décembre 2000 mais son intensité subit des variations saisonnières. Les variations de l'intensité de la transmission du paludisme dépendent de deux facteurs complémentaires :

- Les densités anophéliennes dont les variations sont liées à celles de la pluviométrie ;
- Les taux d'infection qui sont sous la dépendance de différents facteurs facilitant ou non l'ingestion, l'évolution et la transmission du parasite par le vecteur : âge moyen de la population vectrice, leur anthropophilie et la température. Il existerait un lien entre les variations de l'intensité de la transmission du paludisme et les modifications qui interviennent dans la structure de la population vectrice. La transmission du paludisme de l'ordre de 5.10 piqûres infectantes de juin 1999 à décembre 2000 a Bancoumana, est relativement faible pour une zone d'endémie Africaine. Cette intensité de transmission s'inscrit dans un gradient nord-sud qui s'observe en Afrique de l'ouest en général et particulièrement au Sénégal avec une transmission plus faible au nord (Faye et al., 1993) et plus forte dans les zones méridionales (Faye et al., 1994 ; Konaté et al., 1994).

Sporogonie dans les conditions contrôlées de laboratoire.

Le taux moyen de la prévalence gamétocytaire **8.83%** est inférieur à celui observé par Coulibaly M, en 1999 (**11.1%**) sur une période d'étude de deux ans. Il est aussi inférieur à celui de Touré et al (**14.2%**) dans le même village avec la même tranche d'âge.

Le taux expérimental d'infection en macrogamète **3.9%** de juin 1999 à décembre 2000 chez les moustiques gorgés sur des volontaires porteurs de gamétocytes âgés de 4 à 18 ans est 4.14 fois supérieur à celui observé dans les conditions naturelles (0.94). De même, le taux expérimental d'infection en ookinète **6.16%** de Juin 1999 à Décembre 2000 chez les moustiques gorgés sur les mêmes porteurs de gamétocytes, est 7.33 fois supérieur à celui obtenu dans les conditions naturelles (0.84). Enfin, le taux expérimental d'infection en oocyste **17.71%** pendant la même période, chez les moustiques gorgés sur les mêmes porteurs de gamétocytes est **9.37** fois supérieur à celui observé dans les conditions naturelles (**1.89%**).

Cependant ce taux d'infection en oocyste est aussi 2 fois moins élevé que celui de l'étude menée de 1996 à 1998 à Bancoumana (38.8%)[M. Coulibaly, 1999].

Cette baisse progressive des différents paramètres au cours des études menées dans le même village s'expliquerait par le diagnostic précoce et le traitement systématique des cas, dus à la présence permanente de notre équipe de recherche dans le village pendant plus de 3 ans.

Dans les conditions contrôlées de laboratoire et avec la technique classique de la microscopie les taux d'infections en moyenne ont été en macrogamètes (3.9%), en ookinète (6.16%) et en oocyste (17.71).

La même étude a été menée par Gouagna et al (1998) qui ont utilisé plutôt la microscopie à immunofluorescence. Les taux d'infection ont été en macrogamètes 12.6%, en ookinète (5.5) et en oocyste (1.8%).

Cependant nos résultats sont inversement proportionnels au développement normal du parasite chez le moustique, puisque nous remarquons plutôt une augmentation du nombre de parasites des macrogamètes aux oocyste.

Cette incohérence semble être attribuée à la faible sensibilité de la technique classique de la microscopie si on sait que Gouagna et al trouvent le contraire avec des chiffres décroissant des macrogamètes aux oocystes.

Du point de vue biologique, nous retenons que tous les parasites ingérés par le vecteur n'ont pas la chance de continuer leur développement au stade suivant, à cause des réactions immunitaires intrinsèques propres au vecteur lui-même, et d'autres facteurs incluant les anticorps humains ainsi que les facteurs environnementaux. Fort de cela, nous pensons donc que seule la méthodologie quant au choix de l'intervalle de dissection pour les premiers stades de développement de *Plasmodium falciparum* au sein des anophèles, pourrait expliquer la discordance observée.

D'autre part, bien que nous ayons observé une différence des taux d'infection des différents stades de développement de *Plasmodium falciparum* entre les cases avec toit de paille et les maisons avec tôle ; cette différence n'est pas constante pour tous les stades de développement.

Ainsi, nous pensons qu'une méthodologie plus adaptée serait nécessaire pour démontrer de façon plus efficiente l'influence directe de la température et de l'humidité relative sur la sporogonie de ce parasite, et sur la transmission de façon plus générale.

DEAP/MRTC/FMPOS

6.CONCLUSION

6. Conclusion

L'étude de la sporogonie complète et la transmission de *Plasmodium falciparum* par *Anopheles gambiae s.l.* à Bancoumana, en utilisant la technique classique de microscopie simple est une première dans les conditions de terrain. Elle a permis d'établir d'une part, les taux naturels de tous les stades de développement du parasite; et d'autre part de comprendre que les facteurs environnementaux influencent isolement la sporogonie de *Plasmodium falciparum* et les paramètres entomologiques de la transmission. L'établissement des taux naturels des différents stades de développement de *Plasmodium falciparum* est une référence incontestable pour l'évaluation future de tout vaccin de blocage de la transmission.

Nom : Fané
Prénom : Zoumana

Titre : Etude de la sporogonie et de la transmission de *P. falciparum* chez les membres du complexe *An gambiae* s.l. à Bancoumana, Mali

Année de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS

Secteur d'intérêt : Entomologie et parasitologie médicales

Résumé

-Une étude longitudinale à passages transversaux répétés a été conduite à Bancoumana de Juin 1999 à Décembre 2000 sur les aspects entomologiques de la transmission du paludisme. Ce village de 10 000 habitants est situé en zone de savane Sud-soudanienne du Mali, à 60 kms de Bamako et à proximité du fleuve Niger. Notre objectif à long terme est de compléter la préparation de ce site pour un futur essai vaccinal de type blocage de la transmission du paludisme, en recueillant les données entomologiques indispensables sur la sporogonie et la transmission de *Plasmodium falciparum*.

-Trois méthodes de capture ont été utilisées pour collecter les moustiques notamment la capture par aspirateur à bouche, le « spray-catch », et la capture sur appât humain (capture nocturne). D'autre part, les générations F1 des moustiques de Bancoumana ont été utilisées pour l'infestation expérimentale par engorgement direct sur les volontaires porteurs naturels de gamétocytes.

-Les vecteurs rencontrés sont *An. gambiae* s.l. (99.20%) et *An. funestus* (0.80%). La densité moyenne par case d'*An. gambiae* s.l. est plus élevée dans les cases en toit de paille (8.95) que dans les cases en toit de tôles (3.82). Nos observations révèlent qu'*An. gambiae* s.l. est très anthropophile avec un coefficient d'endophagie de 0.44. Les taux de parité très élevés en fin de saison de pluie seraient liés à une baisse de la productivité des gîtes larvaires et une augmentation de la longévité des anophèles. L'agressivité moyenne de 1.45 piqures par homme et par nuit subit une variation mensuelle significative ($P < 10^{-3}$). Le taux d'inoculation entomologique moyen est de 5 piqures infestantes par homme et par mois. La technique classique de la microscopie utilisée dans l'étude de la sporogonie a permis de déterminer d'une part les taux naturels d'infection en macrogamète (0.94%), en ookinète (0.84%) et en oocyste (1, 89%); d'autre part les taux expérimentaux d'infection des mêmes stades de développement de *Plasmodium falciparum* respectivement 3.9% 6.16% et 17.71% pour macrogamète, ookinète et oocystes. La température moyenne dans les habitations humaines a été de 29.33 et l'humidité relative moyenne de 62.69% avec une variation mensuelle significative ($P < 10^{-3}$).

-Ces résultats entomologiques sont discutés en regard des données Parasitologiques, cliniques et démographiques obtenues pendant la même période d'étude à Bancoumana. Les taux d'infection ainsi établis dans les conditions naturelles du développement de *Plasmodium falciparum* constituent une référence potentielle pour l'évaluation d'un futur vaccin de blocage de la transmission dans cette localité et ses environs.

First name : Fané

Surname : Zoumana

Title : Sporogonie and transmission study of *Plasmodium falciparum* by *Anopheles gambiae* s.l., in Bancoumana, Mali

Date :

City

Country : Mali

Depository : Bookcase of faculty of Medecine, Pharmacy and Odonto-Stomatology.

Area of interest : Medical entomology and parasitology

Abstract

A longitudinal study with bi-weekly cross-sectional surveys has been carried out from June 1999 to December 2000 to determine *Plasmodium falciparum* sporogonic development and its transmission by *Anopheles gambiae* s.l., in Bancoumana a village already proposed as a potential site for further malaria transmission-blocking vaccine testing.

Three mosquito collection methods including mouth aspirator, insecticide spraying and human landing catches were used to sample wild anopheline mosquitoes. At the same time, F1 generation anopheline mosquitoes from wild females collected in Bancoumana and held in our insectary conditions were allowed to directly feed on human volunteer gametocyte carriers of the age range of 4-18.

Anopheles gambiae s.l. and *Anopheles funestus* are the main malaria vectors in this village with frequencies of respectively 99.2% and 0.8%. The mean mosquito density is higher in houses with thatched roof (8.95) than that in houses with corrugated metal roof (3.8). We observed that the complex *Anopheles gambiae* is very anthropilic and has an endophilic coefficient of 0.44. The higher mosquito parous rates observed at the end of the rainy season may be explained by a low larval productivity of existing breeding sites and an extended survival of female anopheline mosquitoes. The man biting rate of 1.45 bites/man/night observed significantly varies from month to month during the period of study ($p < 10^{-3}$), as well as the EIR which is 5 infective bites per man per month. Natural *Plasmodium falciparum* infection rates have been determined for both natural and experimental infected mosquitoes by simple microscopic method of Giemsa-stained slides. Mean temperature and relative humidity respectively 29.3°C and 62.6% significantly vary from month to month during the period of study ($p < 10^{-3}$).

These entomologic parameters have been determined along with clinical, parasitological and socio-anthropology data to better discussed how different factors interact to regulate *Plasmodium falciparum* development and transmission by anopheline mosquitoes. Thus, natural parasite infection rates as determined are important baseline data in site preparation for further testing of malaria transmission-blocking vaccines.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1-Anonyme

Grandes lignes du plan d'action de l'OMS pour la lutte contre le paludisme 1993-2000.
Conférence ministérielle sur le paludisme, Amsterdam, 27 Octobre 1992

2-Bagayoko M. (1996). Etude entomologique de la transmission du paludisme à Bancourmana (arrondissement de Sibi, Cercle de Kati). Mémoire DEA, ISFRA, 1996, Bamako, Mali.

3-Bagayoko M., Traoré S.F., Sogoba N., Dao A., Sangaré D., Bouaré M., Koita O., Niaré O., Dolo G., Beir J.C., Sakai R., Doumbo O., and Touré Y.T. *Plasmodium falciparum* genotypes transmission by ecophenotypes of *Anopheles gambiae* complex in Bancourmana, Mali.

4-Beir JC, Copeland RS, Mtalib R, Vaughan JA, 1992. Ookinete rates in Afrotropical anopheline mosquitoes as a measure of human malaria infectiousness. *Am J Trop Med Hyg* 47 : 41-46.

5-Boudin C, Olivier M, Molez JF, Ambroise-Thomas P. 1993. Malaria infectivity of an African population to mosquitoes in the Bobo-Dioulasso area. Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg* 48: 700-706.

6-Chege GM, Beier JC, (1994). Immunodetection of *Plasmodium falciparum* zygotes and ookinetes in *Anopheles* blood meals. *J Am Mosq Control Assoc. Sep ; 10(3) : 419-22.*

7-Chege GM, Beier JC, (1994). Immunodetection of *Plasmodium falciparum* zygotes and ookinetes in Anopheles blood meals. *J Am Mosq Control Assoc. Sep ; 10(3) : 419-22.*

8-Christian Lengeler, Martin Adjuik, Magaran Bagayoko, Fred Binka, Maurice Coetzee, Jonathan Cox, Marlies Craig, Uwe Deichman, Don de Savigny, Etienne Fondjo, Colleen Fraser, Eleanor Gouws, Imo Kleinschmidt, Pierre Lemardeley, Dave le Sueur, Judy Omumbo, Bob Snow, Brian Sharp, Frank Tanser, Tomas Teuscher, Yéya Touré, 1998 Towards an atlas of malaria risk in Africa. First technical report of the MARA/ARMA collaboration. MARA/ARMA, Durban. P5

9-Coulibaly M B. (1999). Comparaison de deux methodes d'infection experimentale des moustiques comme moyens d'evaluation des vaccins de blocage de la Transmission du Paludisme à Bancoumana –Mali. Thèse de Médecine, FMPOS, Bamako, Mali.

10-Collins FH, Kamau L, Ranson HA, Vulule JM(2000). Molecular entomology and prospects for malaria control. *Bull World Health Organ 2000 ; 78(12) : 1412-23*

11Diani F. Evaluation de la situation sanitaire au Mali. 1985.
Thèse de Médecine, n° 2, ENMP. Bamako.

12-D. Mazier 1991 Cycle et biologie des Plasmodiums(dans Médecine Tropicale dirigée par le Professeur Marc Gentilini ; Coordination : Martin Danis et Jean Mouchet.

13-Doumbo O., Wattara NI, Koita O, Maharaux A, Touré YT, Traoré SF, et Quilici M. Approche éco-géographique du paludisme en milieu urbain : ville de Bamako au Mali. *Ecol. Hum.*, 1989, 8 (3) : 3-15.

14-Faye O, Fontenille O, Hervé J P, Diack P A, Diallo S & Mouchet J (1993) le paludisme en Zone sahélienne du Sénégal. 1. Données entomologiques sur la transmissin. *Annales de la Société belge de Médecine tropicale 73*, 21-30.

15-Faye O, Gaye O, Faye O & Diallo S (1994) La transmission du paludisme dans des villages éloignés ou situés en bordure de la mangrove au Sénégal. *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* 87, 157-163.

16-Fondjo E : Etude de la transmission du paludisme à Binco (arrondissement de Kangaré, cercle de Yanfolila). Mémoire, DEA, ISFRA, 1995, Bamako.

17-Gamage-Mendis AC., Carter R. Mendis C., De Zoysa AP. Herath PR. Mendis KN. Clustering of malaria infections within an endemic population : risk of Malaria associated with the type of housing construction. *Am. Jour. Trop. Med. & Hyg.* 1991, 45(1) : 77-85.

18-Gillies MT, Wilkes TJ. A study of the age-composition of populations of *Anopheles gambiae* Giles and *A.funestus* Giles in North-Eastern Tanzania. *Bull Entomol Res.* 1965 Dec ; 56(2) : 237-62.

19- Gouagna LC, Mulder B, Noubissi E, Tchuinkam T, Verhave JP, Boudin C (1998). The early sporogonic cycle of *plasmodium falciparum* in laboratory-infected *Anopheles gambiae* : an estimation of parasite efficacy. *Trop Med Int Health.* Jan ;3(1) :21-8.

20-Graves P.M., Burkot T.R., Cattani J.A., Lagog M., Parker J., Brabin B.J., Gibson F.D.,Bradley D.J., Alpers M.P., 1988. Measurement of malaria infectivity of human population to mosquitoes in the Madang area, papua new Guinea, *Parasitology.* 96 : 251-263.

21-Haidara SA.(1989). Place du paludisme dans les syndromes fébriles en Médecine interne de l'hôpital du point G. Thèse de Médecine, ENPM,Bamaako,Mali.

22Hamon J., Choumara R., J. Ricosse R., Bailly H., Adam D. :
Le Paludisme dans le region pilote de Bobo Dioulasso, Burkina faso.
Cahier de l'O.R.S.T.O.M, 1959.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de cette faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et des condisciples:

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine .

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs, et favoriser des actes criminels .

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque .
