

MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

REPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE – UN BUT – UNE FOI

UNIVERSITE DE BAMAKO

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année universitaire : 2006-2007

No.....

TITRE :

**ETUDE DE LA TRANSMISSION ET
POTENTIEL INFECTIEUX DES
PORTEURS DE GAMETOCYTES
AVANT ET APRES TRAITEMENT
DU PALUSTRE SIMPLE AVEC LES
CTAs A BOUGOULA HAMEAU
(REGION DE SIKASSO)**

THESE :

Présentée et soutenue publiquement le 12 / 04 / 2007 à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie par Mr. Cheick Oumar Koné
Pour Obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY :

Président : Pr. Abdourahamane Sideye Maïga

Directeur : Dr. Abdoulaye Mohamed Touré

Co-Directeur: Pr. Sékou Fantamady Traoré

Membre: Dr. Saïbou Maïga

DEDICACES

BISMILLAHİ RAHMANI RAHİM

Au nom de DIEU, Clément et Miséricordieux

Je dédie cette thèse ...

A **ALLAH** (Qu'il soit loué) et au prophète **Mohamed** (Paix et Bénédiction sur lui).

Lis, au nom de Ton Seigneur Qui a créé,
Qui a créé l'homme d'une adhérence.

Lis ! Ton Seigneur est le très noble,
Qui a enseigné par la plume [le calame],
A enseigné à l'Homme ce qu'il ne savait pas.
Sourate 96 « l'adhérence » Verset [1-5].

Louange à DIEU Qui m'a créé être humain et Qui a fait de moi un musulman de la communauté du **sceau** des prophètes Mohamed (SAW).
Prière sur Mohamed (SAW) dont la prophétie a été une miséricorde pour toute l'humanité.

Le prophète Mohamed (SAW) nous a appris l'amour du prochain, le pardon et la patience.

Je suis convaincu que sans l'aide Divine ce travail n'aurait pas pu être achevé. Je pense avoir accompli loyalement mon contrat d'interne dans le seul espoir d'avoir l'agrément Divin. Si j'aurai failli à ce devoir, je demande pardon à DIEU.

Seigneur DIEU, donne à moi et à l'humanité entière la bonne conduite enseignée par le Coran et la Sunna du prophète Mohamed (SAW). **AMEN**.
Répand, Oh ! Mon Seigneur, Ta Grâce infinie Ta Miséricorde incalculable, Ta Mansuétude grande sur l'humanité pour éradiquer l'endémie du **PALUDISME**. **AMEN**.

A TOUS LES MALADES DU MONDE A TOUS CEUX QUI SOUFFRENT

In memorium:

A mes grands-mères: Fatoumata Kinta, Assitan Koné, Korotoumou Kouyaté et Ténèba Sangaré.

A mes grands-pères : Mahamadou Ballo et Adama Koné.

Vous ne jouirez jamais, ici bas, de ma qualité de *Dokotoro* que vous évoquiez avec tant de tendresse. Vous m'avez tant choyé. Je n'ai jamais été trop grand pour toutes ces marques d'attention que vous aviez pour votre petit fils même quand je m'estimais l'être.

Malgré votre appartenance à une époque très différente de la notre vous m'aviez donné des conseils qui m'ont servi et qui continuent à me servir dans ce monde d'Aujourd'hui.

J'ai tellement voulu que ce moment vous trouve parmi nous. Mais le Tout Puissant en a décidé autrement.

Ce travail est le vôtre. Dormez en paix chers grands parents.

A ma mère Mme Koné Adama Ballo :

Voici le fruit de vos années de sacrifice. Vous vous êtes battue nuit et jour pour notre réussite dans cette vie. Vous êtes la personne la plus chère pour moi. Maman le bout du tunnel est très proche. Inchallah, je te rendrai heureuse sous peu. C'est une promesse qu'il faut prendre comme de l'argent comptant.

A mon père Daouda Koné :

C'est avec une grande déception que je m'adresse à vous. J'aurais souhaité vous dispenser depuis. Mais Hélas, la vie réserve toujours des surprises parfois désagréables.

Vous ne me devez absolument rien. C'est moi qui vous suis redevable. Merci Papa pour l'éducation reçue de vous. Vous m'avez enseigné des vertues qui font ma fierté.

A mes frères et sœurs :

Nouhoum Koné, Ismaila Koné, Aly Koné ; Brehima Koné, Mahamadou Koné, Modibo Koné, Yacouba Koné, Zeinabou Koné, Mariam Koné, Astan Koné.

Je vous remercie pour vos soutiens de tous les jours. Ce travail est le votre. Qu'ALLAH raffermisse notre lien de sang.

A ma femme Aminata Fané :

Chère épouse, je n'ai pas de mots pour te remercier. Ton soutien indéfectible a été fondamental pour mener à bien ce travail de thèse. Je sais à quel point tu t'es privée pour que je sois là. Je sais à quel point ta présence me rassure. Je sais aussi que tu peux compter sur moi. Ce travail est le tien. Je te dis simplement je t'aime. Qu'ALLAH raffermisse notre mariage.

A ma belle famille :

Issa Fané, Toumany Fané, Abdoulaye Fané, Mawa Koné, Ténin Fané, Fatoumata Fané, Kadiatou Fané...

Vous n'êtes plus la belle famille, bien au contraire la famille, le refuge. Vos BÉNÉDICTIONS ont été d'un apport formidable pour moi. Merci Qu'ALLAH vous garde !

A mes tontons :

Drissa Koné, Demba Koné, Bakary Koné, Diakaridja Koné, Mamoutou Koné, Youssouf Koné, Dramane Koné et Mamoutou Maiga.

Vous avez fait de moi votre fils. Ce travail est le vôtre.

A mes tantes :

Moussokoro Ballo, Awa Ballo, Salimata Ballo, Djélika Ballo, Rokia Ballo, Ami Ballo, Djénéba Ballo, Awa Berthé, Djénéba Traoré, Oumou Koné, Fanta Koné, Maimouna Koné, Bintou Koné, Aminata Koné.

Votre admiration pour moi m'a toujours exhorté à plus de persévérance afin de vous donner un bon exemple. Je vous souhaite plein de succès dans la vie.

A mes cousins et cousines :

Daouda Traoré, Sidy Koné, Bakary Doumbia, Mahamadou Niaré, Assitan Sangaré, Bintou Sangaré, Djénéba Ballo, Assitan Ballo, Maimouna Ballo, Awa Ballo, Djénéba Doumbia.

Je profite de ce moment historique pour vous dire Merci.

A mes aînés :

Dr Thierno Aboubacar Bagayogo, Dr Daouda Diaby, Dr Modibo Sangaré, Dr Dramane Sogoba, Dr Oumar Sidibé, Dr Moussa Diarra, Dr Aboubacar Fofana, Dr Oumar Dao, Younoussa Coulibaly, Alassane Traoré, Youssouf Sidibé.

Vous avez guidé mes pas dans cette faculté. Vous m'avez servi d'exemple. Merci pour vos conseils.

A mes amis :

Moumouny Dembélé, Yamoussa Keita, Modibo Diarra, Abdoulaye Bagayogo.

Vous avez été pour moi des frères, des compagnons de lutte. Je souhaite que ce lien soit encore plus solide et qu'il ne soit jamais altéré jusqu'à la fin de nos jours. Ce travail est le votre.

A tous les membres du Club Soumeya de Sogoniko.

A Dr Saibou Maiga et à tout le personnel de l'officine du Point "G" :
Merci pour le bon accueil et le respect dont vous avez fait preuve envers moi.

A tous les étudiants et étudiantes de notre famille:
Cheick B Doumbia, Souleymane Diaby, Yassin, Souleymane Nour, William, Giles, Hermann, Mohamed, Rosine, Carole, Sitana, Mariam.
Je profite de cet instant exceptionnel pour vous dire Merci.

A toute la famille de Feu Oumar Ballo à Médina Coura.

A l'iman du Point "G" : Mahamadou Kané ; à son adjoint : Mama Kinta ; à tous les frères du Makam du Point "G" et à tous les musulmans du Point "G".
Que DIEU nous unisse d'avantage.

A toute la population du Point "G".

A tous mes enseignants depuis la maternelle jusqu'à la FMPOS en particulier : Chaka Dembélé, Adama Traoré, Makan Sissoko, Famory Doumbia, Moussa Harama, Mahamadou Cissé, Drissa Diallo.

Aux frères et sœurs de la LIEEMA :
Seydou Berthé, Abdoulaye Fofana, Mohamed Dicko, Bassirou Diarra, Amadou Abathina Touré, Abou Bayoko, Bilal Dicko, Goita, Bassidy Togola, Almamy, Mohamed Traoré, Djibril Camara, Siratigui Traoré, Ibrahima Maiga, Tambassi, Sogoba, Djélika Konaté, Djénéba Traoré, Ramatoulaye Coulibaly, Atmata Sylla, Youma Diarra, Rokia Gassamba, Kadiatou Koné.
Ce travail est le fruit de votre totale collaboration.

A mes amis de la promotion PHARMACIE 2000-2005 :

Faisons en sorte que notre promotion soit de tous les combats pour rehausser le niveau de la science. Merci mille fois pour cette ambiance studieuse que nous avons entretenue ensemble.

A tous ceux qui de loin ou de près, physiquement et matériellement m'ont aidé dans ce travail.

A tous les enfants du quartier de Bougoula-Hameau.

A tous les étudiants et toutes les étudiantes de la FMPOS. Bonne chance et du courage.

REMERCIEMENTS

Remerciements

Aux chercheurs du MRTC (DEAP)

Pr. Sékou F. Traoré, Dr. Abdoulaye Touré, Dr. Mahamadou Coulibaly, Dr .Mahamadou Touré, Dr Yaya Coulibaly, Dr.Alpha Adamou, Dr Benoît Dembélé, Guimogo Dolo Nafomo Sogoba, Mangara Bagayoko, Djibril Sangaré, Adama Dao, Ibrahim Baber Maiga, Oumou Niaré.

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 aînés diplômés de l'ENSUP au laboratoire MRTC

Alpha Seydou Yaro, Ibrahim Moussa Sissoko, Cheick Amadou Coulibaly, Abdallah Diallo, Moussa Keita.

C'est le lieu de vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi. Bonne carrière professionnelle.

A mes aînés et à mes amis thésards au laboratoire MRTC

Dr Sékou Koumaré, Dr Mahamoud Maiga, Dr Bréhima Diallo, Dr Boubacar Guindo, Dr Sibiri Samaké, Dr Danaya Koné, Batenin Sacko, Assan Dolo, Lamine Soumaoro, Mahamadou Konaté, Mahamadou Traoré, Amadou Guindo, Bréhima Diakité, Yaya Kassogué, Seydou Balam, Housseyni Dolo, Chaka Coulibaly, Chaka Konaté, Madjou Sacko, Cheick Haibala Kounta,

Tous, vous avez répondu présent et avec enthousiasme à mes appels pour me servir le long de ce travail. Je vous souhaite plein de succès dans la vie.

Aux techniciens du MRTC

Adama Sacko, Abdramane fofana, Moussa Diallo, Boubacar Coulibaly, Michel Coulibaly.

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

A nos guides de Bougoula-Hameau

Ibrahim Traoré, Boubacar Koné, Yacouba Kouyaté, Karim Traoré, Chaka Traoré, Bourama Diarra, et notre cuisinière Djéneba Coulibaly ; ainsi que toute la famille Feu Kafa Diarra.

A Dr. Richard Sakai

Cette thèse a été facilitée par votre appui technique et votre bienveillance.
Cher grand-père je vous remercie pour tout.

A l'administrateur du MRTC

Souleymane Karembé. Merci pour tout.

A toute l'équipe parasito-clinique de Bougoula-Hameau.

Dr Bakary Fofana, Dr Bakary Sidibé, Amadou Togo, Demba Dembélé, Sékou Touré, Kassim Sanogo.

Merci pour votre fraternité.

Aux chauffeurs du MRTC (DEAP)

Mamadou Keita, Mamadou Diarra, Atimè Dama, Madou Diallo, Moumouni Diallo, Abdoulaye Koné, Ousmane Ouologuème, Moro Diakité, Yoro Sidibé, Youssouf Diarra, Moussa Niaré.

Aux manœuvres du MRTC (DEAP)

Bemba Diarra, Abdoulaye Coulibaly, Mamadou Traoré, Youssouf Traoré.

A tout le village de Bougoula-Hameau pour sa collaboration.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Abdourahamane Sideye Maïga

Professeur en Parasitologie-Mycologie médicale

Chef de service de l'INRSP

Titulaire de cours de Parasitologie-Mycologie médicale à la FMPOS

Nous vous remercions du grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de cette thèse malgré vos multiples sollicitations.

Votre sens élevé de la responsabilité et votre constante disponibilité font de vous un Maître écouté et respecté.

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

Soyez assuré cher Maître de notre sincère reconnaissance.

A notre Maître et directeur de thèse

Docteur Abdoulaye Mohamed Touré

Docteur en Médecine

Ph D en Entomologie-Parasitologie médicale

Chef de l'unité Interaction Vecteur Parasite au MRTC

Permettez-nous, cher illustre Maître de vous adresser le salut fraternel, le salut de la paix, de la convivialité et de l'amour ; le salut sans frontière :

ASSALAM ALEYKOUM.

En nous confiant ce travail, c'est une marque de confiance supplémentaire que vous venez de placer en nous.

Vous côtoyant réellement, nous avons été émerveillés par votre humilité, vos qualités scientifiques et humaines inestimables, votre gentillesse et surtout votre détermination dans le travail, alors là un travail bien fait.

Au temps dire que vous avez sacrifié pour nous vos temps libres afin de nous transmettre vos connaissances.

Bien plus qu'un Maître, vous êtes pour nous un guide à qui nous demandons la lumière pour aller vers le savoir ultime en science.

Oh ! Maître, acceptez ces quelques mots avec courtoisie même s'il faut en souffrir.

Pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour nous, nous vous disons simplement merci.

Nous prions le Seigneur afin que nous puissions toujours être à la hauteur de cette confiance que vous ne cessez de porter à nous.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Professeur Sékou Fantamady Traoré

Co-directeur du MRTC

Chef de service de la section entomologie

Chef de l'unité écologie des vecteurs et de la transmission

Titulaire de cours de Biologie cellulaire à la FMPOS

Nous avons eu le privilège de bénéficier de votre assistance pour l'amélioration de la qualité de ce document.

Grâce à votre sens élevé de la responsabilité, votre rigueur scientifique et vos grandes qualités intellectuelles ce travail a vu le jour.

Votre grande disponibilité, vos qualités humaines et sociales inestimables nous serviront d'exemple. Nous ne saurions assez vous remercier.

A notre Maître et juge de thèse

Docteur Saïbou Maïga

Docteur en Pharmacie

Titulaire de l'officine du Point «G»

Membre du comité d'éthique à la FMPOS

Titulaire de cours de Législation Pharmaceutique à la FMPOS

Paix et joie à vous qui nous faites l'honneur de juger ce travail.

Votre disponibilité constante à partager la grande expérience scientifique, votre simplicité, votre bonne humeur inaltérable, votre gentillesse, vos grandes qualités pédagogiques font de vous un Maître admirable.

Veillez trouver ici le témoignage de notre gratitude.

ABREVIATIONS

ABTS : Peroxydase Substrate Solution A et B

AR-L : Artémether Luméfantrine

ARNm : Acide Ribo Nucléique messenger

An : *Anopheles*

AQ : Amodiaquine

AS : Artémisinine

BB NP40: Blocking Buffer Nonidet P40

CED : Centre d'Education pour le Développement

C.N : Capture de Nuit

Cp : comprimé

CSP: Circum Sporozoïtique Protéïn

CTAs : Combinaisons thérapeutiques à base d'Artémisinine

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

d : densité

ddl : degré de liberté

dl : décilitre

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

Fig : Figure

FMPOS : Faculté de Médecine, de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie

g : gramme

GIS : Géographic Information System

Hb : Hémoglobine

Hg : Hydrargyrum (mercure)

HCl : Chlorure d'Hydrogène

HR : Humidité Relative

H : heure

IAS : Indice d'Antigène Sporozoïtique

IC : Intervalle de Confiance

IP : Indice Plasmodique

J : jour

Kg : kilogramme

Km: Kilomètre

L: Larve

m.a : agressivité moyenne

m: mètre

mg: milligramme

ml: millilitre

mm: millimètre

mn : minute

MRTC: Malaria Research and Training Center

NaOH : Hydroxyde de sodium

Nb: Nombre

n: fréquence

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBS: Phosphate Buffer Saline

PCR : Polymérase Chain Réaction

P : Parité

p : p-valeur

pH : Pourcentage d'hydrogène

P/h/mois : piquêre par homme et par mois

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

s.l.: sensu lato (sens large)

SP : Sulfadoxine-pyriméthamine

s.s : sensu stricto (sens strict)

T° : Température

T : Total

TA : Taux d'Anthropophilie

TIE : Taux d'Inoculation Entomologique

µg : microgramme

µl : microlitre

µm : micromètre.

% : pourcentage

°c : degré celcius

X² : Chi carré

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Les informations météorologiques de la station de la ville de Sikasso en 2005.....	22
Tableau II : Relevés pluviométriques de Sikasso 2005.....	22
Tableau III : Les schémas thérapeutiques.....	32
Tableau IV : Densité par case <i>d'An. gambiae s.l</i> pendant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.....	34
Tableau V : Agressivité (nombre moyen de piqûres par homme et par mois) <i>d'An. gambiae s.l</i> en captures de jour durant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.....	34
Tableau VI : Taux d'infection <i>d'An. gambiae s.l</i> pendant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.....	35
Tableau VII : Taux d'anthropophilie <i>d'An. gambiae s.l</i> durant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.....	35
Tableau VIII : Taux d'inoculation entomologique mensuel <i>d'An. gambiae s.l</i> en captures de jour pendant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 Bougoula Hameau.....	36
Tableau IX : Taux d'inoculation entomologique mensuel <i>d'An. gambiae s.l</i> en captures de nuit durant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.....	36
Tableau X : Répartition des porteurs de gamétocytes par groupes d'âge avant et après traitement au cours de l'infestation expérimentale Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.....	38
Tableau XI : Potentiel Infectieux des porteurs de gamétocytes (avant et après traitement) en fonction des groupes d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.....	38
Tableau XII : Taux d'infection des moustiques avant et après traitement en fonction du groupe d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.....	39
Tableau XIII : Taux global d'infection des moustiques en fonction des bras de traitement à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.....	39

Tableau XIV : Répartition de la charge oocystique avant et après traitement en fonction du groupe d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.....	40
Tableau XV : Répartition de la charge oocystique en fonction du traitement reçu et du groupe d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.....	40
Tableau XVI : Taux d'infection des moustiques à J0 et à J7 en fonction des bras de traitement à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.....	41

LISTE DES FIGURES

Figure.1 : photo d' <i>Anopheles gambiae</i> .s.l.....	6
Figure.2 : Schéma du cycle évolutif de <i>Plasmodium falciparum</i>	9
Figure.3 : Photo montrant les différents stades évolutifs de <i>Plasmodium falciparum</i>	11
Figure.4 : Carte du Mali montrant le cercle de Sikasso et la position du site d'étude.....	16
Figure 5 : Variations mensuelles des indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme de Juillet, d'Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.....	37

SOMMAIRE

	Pages
1. INTRODUCTION	1
2 GENERALITES	5
2.1. Les vecteurs	5
2.2. Les parasites	6
2.2.1. La sporogonie ou cycle sexué chez l'An femelle.....	6
2.2.2. La schizogonie ou multiplication asexuée chez l'homme.....	7
2.3. Biologie des gamétocytes.....	10
2.3.1. Définition.....	10
2.3.2. Origine des gamétocytes.....	10
2.3.3. Facteurs de risque de la gamétocyto-génèse de <i>P. falciparum</i>	11
2.3.4. La gamétocyto-génèse.....	12
2.3.5. Le sexe des gamétocytes	13
2.4. Infestation expérimentale.....	13
2.4.1. Définition.....	13
2.4.2. Infestation directe ou « direct feeding ».....	14
2.4.3 Infestation sur membrane ou « membrane feeding ».....	14
2.4.4. Intérêts.....	14
2.4.5. Historique.....	14
2.4.6. Infectivité des porteurs naturels de gamétocytes pour le moustique.....	14
2.4.7. Infectivité des porteurs de gamétocytes après traitement antimalarique.....	15
3. MATERIELS ET METHODES	16
3.1. Lieu d'étude	16
3.1.1. Historique	17
3.1.2. Climat végétation et sols.....	18
3.1.2.1. Climat	18
3.1.2.2. Végétation : flore et faune.....	18
3.1.2.2.1. Flore	18
3.1.2.2.2. Faune	19
3.1.2.3. Sols	19

3.1.3. Relief et hydrographie.....	19
3.1.4. Démographie	20
3.1.5. Activités économiques	20
3.1.6. Organisation administrative	21
3.1.7. Infrastructures	21
3.1.8. Justification du choix de Bougoula	21
3.2. Type d'étude.....	23
3.3. Période d'étude	23
3.4. Echantillonnage	23
3.5. Considérations éthiques	24
3.6. Etude de la transmission	25
3.6.1. Collection des moustiques	25
3.6.1. 1. Capture de nuit.....	25
3.6.1. 2. Capture de jours	25
3.6.2. Traitement des échantillons	26
3.7. Organisation du personnel	26
3.8. Dépistage	27
3.9. Goutte épaisse	27
3.9.1. Prélèvement et mode opératoire	27
3.9.2. Coloration et lecture des lames	28
3.10. Convocation des porteurs	28
3.11. Etude de l'infestation expérimentale	29
3.11.1. Elevage des moustiques	29
3.11.2. Infestation expérimentale proprement dite.....	30
3.11.3. Attribution des traitements.....	31
3.11.4. Dissection des moustiques.....	33
3.11.4.1. Mode opératoire	33
3.11.4.2. Matériels	33
3.12. Saisie et analyse des données.....	33

4. RESULTATS	34
4.1. La transmission.....	34
4.1.1. Composition vectorielle.....	34
4.1.2. Densité par case à partir des captures de jour.....	34
4.1.3. Agressivité.....	34
4.1.3.1 .Agressivité à partir des captures de jour.....	34
4.1.3.2. Agressivité à partir des captures de nuit.....	35
4.1.4. Taux de parité.....	35
4.1.5. Taux d'infection à l'antigène sporozoïtique.....	35
4.1.6. Taux d'anthropophilie.....	35
4.1.7. Taux d'inoculation entomologique.....	36
4.1.7. Taux d'inoculation entomologique à partir des captures de jour.....	36
4.1.7. Taux d'inoculation entomologique à partir des captures de nuit.....	36
4.2. Infestation expérimentale.....	38
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	42
6. CONCLUSION	46
7. RECOMMANDATIONS	47
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

Maladie parasitaire la plus répandue dans le Monde, le paludisme ou malaria (mauvais air) est une erythrocytopathie fébrile et hémolysante, dû à un hématozoaire du genre plasmodium. La transmission se fait par l'intermédiaire de la piqûre infectante d'un vecteur : la femelle d'un moustique du genre Anophèles. Cette parasitose a été découverte depuis plus de 100 ans, et pose encore un véritable problème de santé publique. Le nombre de personnes exposées au paludisme à travers le monde est estimé à 2.6 milliards soit 55% de la population mondiale ; avec un nombre de cas cliniques estimé à 300-500 millions, et 1-2 millions de décès par an [3]. De nos jours, sur l'ensemble des cas de décès dus au paludisme dans le Monde, environ 90% se produisent en Afrique au sud du Sahara. Sur ce continent, on estime qu'un million d'individus meurent de paludisme chaque année, avec la plus grande proportion chez les enfants de moins de 5 ans [53].

Au Mali, 28,9% des consultations médicales sont dues à cette affection avec des taux de mortalité et de morbidité respectifs de 26,13% et de 27,16%. Chez les femmes enceintes, le paludisme est à l'origine de la moitié des anémies [27].

En Afrique de l'Ouest et singulièrement au Mali, les principaux vecteurs sont : *Anopheles gambiae s.l* et *Anopheles funestus* [44].

Au Mali l'étude du polymorphisme chromosomique réalisée par Touré et al (1983) a montré que le complexe *Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme, est composé d'*Anopheles arabiensis* et de trois formes chromosomiques d'*Anopheles gambiae s.s* dénommées : Bamako, Savane Mopti [45].

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

Les trois premières espèces sont rencontrées au Mali, mais il faut cependant noter qu'un cas de *P vivax* a été décrit au Nord du Mali [24]. *P falciparum* est l'espèce *plasmodiale* la plus dangereuse et la plus abondante au Mali (près de 90%). Elle provoque les formes graves et compliquées du paludisme. Cette espèce *Plasmodiale* est suivie de *P malariae* (environ 10%) ; *P ovale* (environ 1%) [27].

La répétition du cycle parasitaire à des intervalles de 48 h ou de 72 h selon l'espèce *Plasmodiale* détermine le type de fièvre : fièvre tierce maligne pour *P. falciparum*, fièvre tierce bénigne pour *P. ovale* et fièvre quarte maligne pour *P. malariae*.

L'apparition et la propagation de souches Plasmodiales résistantes aux antipaludiques existants ont fortement handicapé le contrôle de la maladie en Afrique. Ceci a eu comme conséquence un changement de la politique de première ligne du traitement dans de nombreux pays d'Afrique Sub-saharienne y compris le Mali. Pour limiter la propagation de la chimiorésistance et protéger les nouvelles molécules antipaludiques, l'OMS a recommandé d'éviter la monothérapie au profit des combinaisons thérapeutiques [51]. Au Mali nous assistons maintenant à l'accroissement de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine [19].

Le choix éclairé de l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTAs) a été adopté au Mali après des études initiées par le Malaria Research and Training Center (MRTC) pour identifier la meilleure combinaison.

Le programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) a récemment recommandé l'utilisation des combinaisons Artémether-Lumefantrine (AR-L, COARTEM®, NOVARTIS) ou Amodiaquine-Artesunate comme traitement de première intention des accès palustres simples au Mali. Les combinaisons sont composées de molécules antipaludiques d'action

rapide avec une demie vie courte (dérivées d'artémisinines) et celles d'action lente à demie vie longue (SP, AQ).

Des études menées en Asie du sud-est ont démontré pour la première fois l'efficacité et l'utilité de ces combinaisons dans le traitement du paludisme non compliqué. Dans ces zones, l'usage continu des combinaisons à base d'artémisinine a fortement baissé l'incidence du paludisme [50, 52]. Il existe non seulement une différence d'ordre génétique et moléculaire entre les souches Plasmodiales d'Afrique et d'Asie d'une part et d'autre part une différence de niveau de transmission qui est en général intense en Afrique. Les différentes évaluations sur 14 jours ou sur 28 jours selon le protocole OMS ont montré une bonne efficacité thérapeutique des différentes combinaisons en Afrique et particulièrement au Mali. Cependant l'impact de leur utilisation à long terme sur le portage des gamétocytes reste à démontrer. Dans la présente étude, nous nous proposons de comparer l'effet à long terme de chacun des trois bras thérapeutiques sur le portage et l'infectivité des gamétocytes après traitement par les CTAs.

Pour cela, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

OBJECTIF GENERAL

Etudier la transmission et déterminer l'infectivité des moustiques par des porteurs de gamétocytes avant et après traitement aux CTAs à Bougoula Hameau, Sikasso.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- mesurer les différents paramètres entomologiques de la transmission du paludisme;
- déterminer l'infectivité *d'An gambiae s.l* par des porteurs de gamétocytes avant et après traitement aux CTAs;
- comparer l'infectivité *d'An gambiae s.l* par les porteurs de gamétocytes en fonction des différents bras de traitement ;
- comparer la charge oocystique chez les femelles *d'An gambiae s.l* gorgées sur les porteurs du même groupe d'âge en fonction du traitement reçu.

GENERALITES

2 GENERALITES

2.1. Les vecteurs

Le paludisme humain est transmis par les anophèles. A cet effet, l'épidémiologie du paludisme humain suit la distribution spatiale des *anophèles* vecteurs.

En Afrique, dans les régions au sud du Sahara les vecteurs prédominants sont *An. gambiae s.l.* et *An. funestus*. Le complexe *An. gambiae* comprend six espèces : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. quadrianulatus* et *An. bwambe* [46]. Ces espèces du complexe *An. gambiae* sont morphologiquement identiques, mais présentent des barrières de reproduction et des préférences écologiques distinctes.

Au Mali, sont présentes: *An. gambiae s.s.*, *An. Arabiensis* et *An funestus*. L'espèce *An. gambiae s.s.* est composée de trois formes chromosomiques (Bamako, Mopti, savane) [46] qui contribuent toutes à la transmission du paludisme.

Les cinq entités vectrices montrent des différences significatives de distributions géographiques et saisonnières de leurs fréquences relatives [12, 26, 47,48,] Ainsi *An. gambiae s.s.* s'observe essentiellement dans les zones humides du Sud et au Nord, dans les zones d'inondation du fleuve Niger ; alors qu'*An arabiensis* se rencontre dans les zones plus sèches et éloignées des terres inondées. Les formes Bamako et Savane s'observent essentiellement en saison des pluies alors que la forme Mopti et *An arabiensis* se rencontrent aussi bien en saison des pluies qu'en saison sèche. Ces différents taxa coexistent souvent avec *An funestus*, qui est responsable de transmission pendant la saison sèche fraîche entretenant un système de transmission par relais [32, 33, 48].

Cette complexité du système vectoriel fait qu'au Mali, l'épidémiologie du paludisme diffère selon les régions géographiques.



Figure .1: photo d'*Anopheles gambiae* .sl.

Source: www.arbovirus.health.nsw/mosquit/othermosq.htm

2.2. Les parasites

Le cycle parasitaire se divise en deux phases : la sporogonie chez le moustique et la schizogonie exo et endo-érythrocytaire chez l'homme.

2.2.1. La sporogonie ou cycle sexué chez l'Anophèle femelle

En prenant son repas sanguin sur le sujet parasité l'anophèle femelle absorbe les trophozoïtes, les schizontes, les rosaces et les gamétocytes. Seuls les gamétocytes échappent à la digestion. Rapidement, par expulsion d'un corpuscule chromatinien, le gamétocyte femelle se transforme en macro gamète ; chez le gamétocyte mâle, la micro gamétogenèse ou ex- flagellation est plus lente: le noyau se divise en

donnant naissance à huit microgamètes mâles flagellés, d'environ 20µm, très mobiles qui vont rapidement à la rencontre des macro gamètes femelles [14].

Par fertilisation et par la faveur d'un chimiotactisme positif, les gamètes mâles haploïdes fécondent les femelles non mobiles et également haploïdes. Il en résulte des zygotes diploïdes non mobiles qui se transforment en ookinètes diploïdes, mobiles et allongés au bout de 20 à 24 heures. Les ookinètes pénètrent l'épithélium stomacal pour se transformer à la surface en oocystes non mobiles et diploïdes. Les oocystes sont des éléments circulaires aux contours réguliers, qui se fixent sur la paroi de l'estomac du moustique. A l'intérieur des oocystes vont se former des sporocystes qui donneront plusieurs centaines de sporozoïtes. La taille de l'oocyste passe d'environ 8µm à environ 60-80µm pendant sa maturation. La maturation de l'oocyste (ou sporogonie) dure de 4 à 21 jours suivant les conditions climatiques pour *P. falciparum*. A maturité les oocystes éclatent et les sporozoïtes sont libérés dans l'hémolymphe, en 24 heures environ, la majorité d'entre eux va migrer vers les glandes salivaires. Les sporozoïtes sont mobiles et mesurent 12 x 1µm. Les sporozoïtes survivent en général 2 à 3 semaines dans les glandes salivaires (maximum 2 mois). La survie des sporozoïtes dépend de l'adaptation : *Anopheles/Plasmodium* [41]. Ces sporozoïtes, lors d'un prochain repas de sang du moustique, sont inoculés à l'homme [14].

2.2.2. La schizogonie ou multiplication asexuée chez l'homme

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

Après 30 mn dans le sang périphérique, les sporozoïtes atteignent les hépatocytes pour s'y multiplier et former des masses multinuclées

repoussant les noyaux de celles-ci vers la périphérie: schizontes ou corps bleus (40 à 100µm). Parallèlement apparaissent, dans l'hématie selon l'espèce plasmodiale, des granulations de Schüffner (*P. vivax*, *P. ovale*) ; de Maurer (*P. falciparum*) ou de Ziemann (*P. malaria*).

Les corps bleus s'éclatent pour libérer des mérozoïtes qui peuvent infecter aussi chacun un autre hépatocyte : c'est le cycle hépatique ou exo-érythrocytaire.

Certains mérozoïtes, par endocytose infectent les hématies et deviennent des trophozoïtes (2 à 3µm) possédant chacun une grosse vacuole nutritive qui repousse le noyau vers la périphérie. Ces trophozoïtes se multiplient pour donner des schizontes ou corps en rosace qui vont se charger de pigments malariques (hémozoïne). L'hémozoïne libérée, est phagocytée soit dans le sang par les polynucléaires neutrophiles ou par les monocytes, qui deviennent mélanofères; soit par des histiocytes du foie (cellule de Küpffer), ou la rate ou la moelle hématopoïétique.

Chaque schizonte s'éclate pour libérer des trophozoïtes dont certains réinfectent les hématies saines: c'est le cycle endo-érythrocytaire. Après un certain nombre de cycles, quelques trophozoïtes se transforment en gamétocytes différenciés mâles et femelles. Ce cycle asexué dure 10 à 40 jours selon la température extérieure et les espèces en cause [14].

Cycle évolutif du plasmodium (Encyclopédie Médico-Chirurgicale Tome 4 8-507-A-10) .

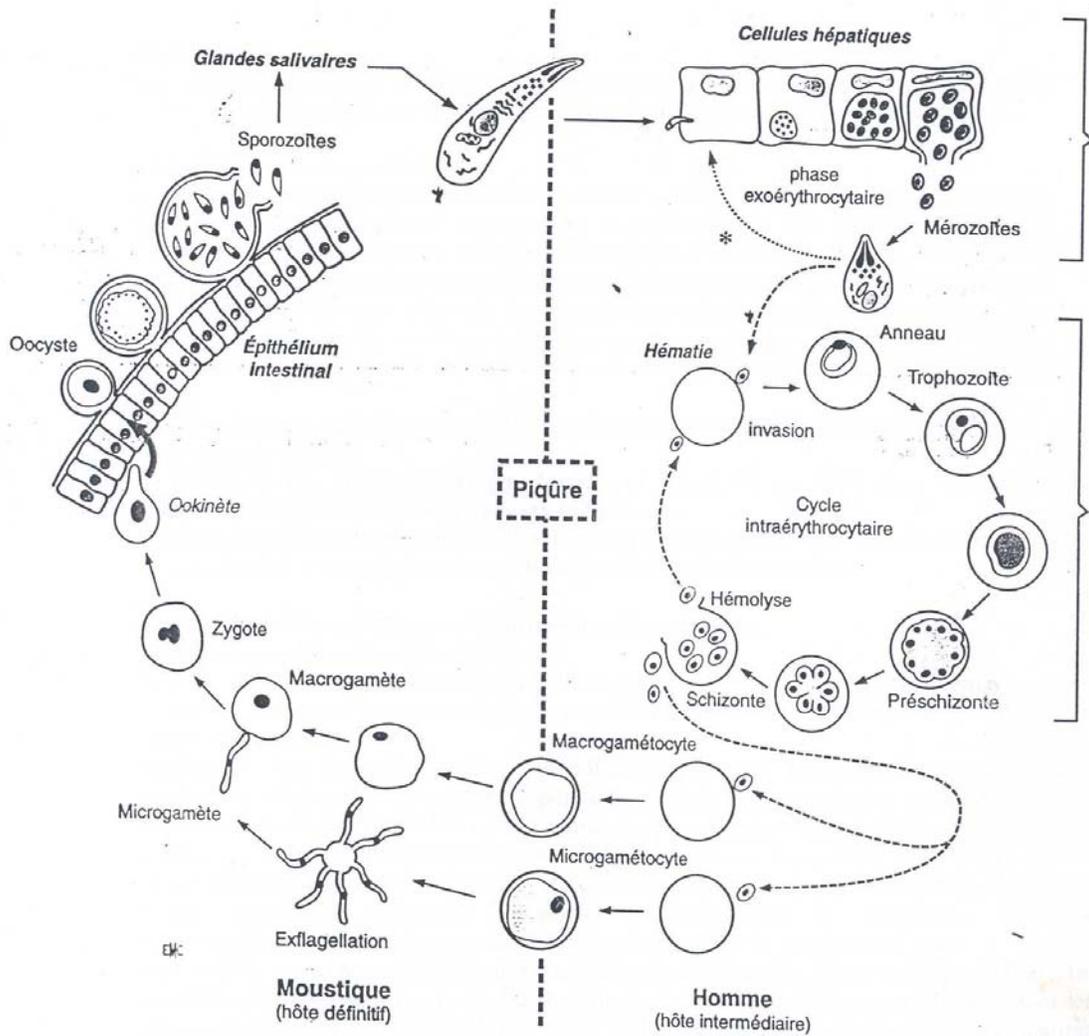


Figure.2 : Schéma du cycle évolutif de *Plasmodim falciparum* [14].

2.3. Biologie des gamétocytes

2.3.1. Définition

Le terme gamétocyte désigne des pré gamètes, observés dans le sang circulant de l'homme. Les gamètes proprement dits sont observés chez le moustique et résultent de l'activation des gamétocytes ingérés avec le repas sanguin. Seuls les gamètes sont capables de se féconder et vont initier le développement sporogonique chez le vecteur si celui-ci est sensible à l'espèce parasitaire.

2.3.2. Origine des gamétocytes

Les gamétocytes de *P. falciparum* proviennent de stades sanguins asexués [36]. On n'observe pas chez les *plasmodiums* humains la production de gamétocytes directement à partir des mérozoïtes hépatiques. Le nombre de gamétocytes est ordinairement très inférieur à celui des stades asexués, de l'ordre de 1 à 3 gamétocytes pour 100 trophozoïtes. Deux notions peuvent concourir à expliquer ce phénomène. D'une part, la densité de stades asexués, le plus souvent de 10 à 100 fois supérieure à celle des gamétocytes, monopoliserait la réponse immune de l'hôte et donc protégerait les gamétocytes. D'autre part, une forte charge parasitaire pouvant être néfaste à la survie du vecteur ; on note qu'une faible gamétocytemie suffit pour assurer le développement sporogonique et par conséquent une transmission vecteur-homme [40].



Figure.3 : Photo montrant les différents stades évolutifs de *Plasmodium falciparum*.

Source : Organisation mondiale de la Santé (OMS, 1985)

2.3.3. Facteurs de risque de la gamétocytogénèse de *P. falciparum*

La gamétocytogénèse est à considérer comme un processus spontané qui accompagne une infection palustre. Cependant, toute modification environnementale occasionnant une situation de stress pour les formes

asexuées circulantes peut être à l'origine d'une forte poussée gamétocytaire. Ceci fait dire que le gamétocyte est une forme d'évasion du parasite d'un environnement hostile vers un autre moins hostile.

Ces facteurs de risque de la gamétocyto-genèse sont très variés :

- les fortes charges parasitaires asexuées [43] ;
- l'anémie est aussi une situation de stress et s'accompagne souvent de poussées gamétocytaires [49];
- un traitement à doses subcuratives ainsi que le retard au traitement de l'accès palustre peuvent être responsables d'une poussée gamétocytaire [38];
- certains médicaments ont un rôle direct sur la gamétocyto-genèse.

La chloroquine, comme les amino-4-quinoléines, est gamétocytocide sur les stades gamétocytaires jeunes (I à III), mais des observations récentes ont montré que ce médicament est également gamétocytogène [9] ; l'association sulfadoxine+pyriméthamine est non seulement gamétocytogène, mais également sporonticide.

Les dérivés de l'artémisinine diminuent le portage des gamétocytes [39] d'où la nécessité de connaître leur effet sur la gamétocyto-genèse et la transmission, afin de pouvoir les utiliser de façon optimale en santé publique. Actuellement, on privilégie beaucoup les associations médicamenteuses [22] pour diminuer l'induction de la gamétocyto-genèse. -Certaines souches de parasites sont certainement plus gamétocytogènes que d'autres [21].

2.3.4. La gamétocyto-genèse :

C'est la formation des gamétocytes.

Les gamétocytes de *P malariae*, *P ovale* et *P vivax* se développent en 1 à 3 jours et sont le plus souvent contemporains de la poussée asexuée qui leur a donné naissance. Par contre, la gamétocyto-génie de *P. falciparum* présente une longue période de maturation de 7 à 12 jours selon les

auteurs [16], et les premiers gamétocytes matures apparaissent bien après la poussée asexuée initiale. On considère que le gamétocyte, quel que soit son sexe, est haploïde [23].

2.3.5. Le sexe des gamétocytes

Les Plasmodies sont des parasites hermaphrodites. Les gamétocytes mâles et femelles sont discernables (i) par un cytoplasme coloré au Giemsa en rose pâle chez le mâle (il y a peu de ribosomes et de mitochondries) et en violet dense chez la femelle (il y a beaucoup de ribosomes ; d'ARNm et de mitochondries) ; (ii) par la présence d'une alpha-tubuline II chez le gamétocyte mâle à partir du stade II et d'une protéine Pfg377 chez le gamétocyte femelle, présente dès le stade III. Des anticorps contre ces protéines ont été synthétisés et utilisés pour reconnaître, précocement et sans ambiguïté les mâles et femelles de *P. falciparum* [35, 37]. La présence de gamétocytes des deux sexes est indispensable pour le succès du développement sporogonique [10]. Par définition, le sex-ratio désigne le rapport entre le nombre de mâles sur le nombre de femelles dans une population. Chez les *Plasmodium*, le sex-ratio est fortement biaisé à l'avantage de gamétocytes femelles ; ordinairement, on observe un gamétocyte mâle pour trois ou quatre gamétocytes femelles, mais d'importantes variations ont été observées [29, 30, 31].

2.4. Infestation expérimentale

2.4.1. Définition

Les moustiques utilisés en infestation expérimentale ne sont pas infectés car ils proviennent de larves élevées à l'insectarium. La technique consiste à gorger des femelles néonates avec du sang d'un sujet porteur de gamétocytes.

Il y a deux méthodes d'infestation provoquée chez le moustique : une dite « directe » et l'autre « indirecte ».

2.4.2. Infestation directe ou « direct feeding »

Les moustiques contenus dans un pot (25-30 moustiques /pot) sont directement gorgés sur les jambes (mollet) ou sur les cuisses du porteur de gamétocytes pendant 10-15 mn.

2.4.3 Infestation sur membrane ou « membrane feeding »

Les moustiques sont gorgés sur du sang à travers la membrane (parafilm) d'un dispositif appelé « feeder » pendant 10-15 mn.

2.4.4. Intérêts

Ces deux méthodes ont permis de comprendre et d'expliquer plusieurs phénomènes dans la problématique du paludisme, et constituent de bons outils de travail.

2.4.5. Historique

En 1950, Muirhead-Thompson a publié les premières études qui ont permis de déterminer dans des zones de paludisme la proportion de personnes qui sont infectieuses pour les moustiques. Ainsi, il trouva dans un village de l'Afrique de l'Ouest que 10-11% des individus étaient infectieux pour les moustiques.

Les méthodes d'infestation directe et sur membrane ont été utilisées pour l'évaluation de l'immunité de blocage de la transmission du paludisme en étudiant les facteurs impliqués [8].

2.4.6. Infectivité des porteurs naturels de gamétocytes pour le moustique

Quelque que soit le niveau de transmission d'une zone, tous les porteurs naturels de gamétocytes ne sont pas infectants pour le moustique et cela à cause d'un grand nombre de paramètres « humains », « parasite », ou

«moustique » concourant à la réussite du développement parasitaire chez le moustique [11].

Ainsi seuls quelques-uns de ces facteurs peuvent être exploités du point de vue épidémiologique à savoir : la prévalence et la densité gamétocytaire. Ceci pourrait être dû à l'existence d'une probable corrélation entre la charge gamétocytaire et l'infectivité du porteur pour le moustique [5]. Actuellement, ceux ci restent les seuls paramètres utilisés sur le terrain.

2.4.7. Infectivité des porteurs de gamétocytes après traitement antimalarique

Dans une zone d'endémie palustre la population est soumise à un traitement antimalarique continu afin de réduire la morbidité liée à cette maladie. Il a été établi que l'utilisation des antipaludiques peut favoriser la gamétocytogénèse chez un porteur de parasites asexués. En effet, les antipaludiques entraînent une souffrance chez les parasites qui en réaction peuvent rapidement proliférer pour échapper au changement de milieu dû à la présence du produit.

METHODOLOGIE

3. MATERIELS ET METHODES

3.1. Lieu d'étude

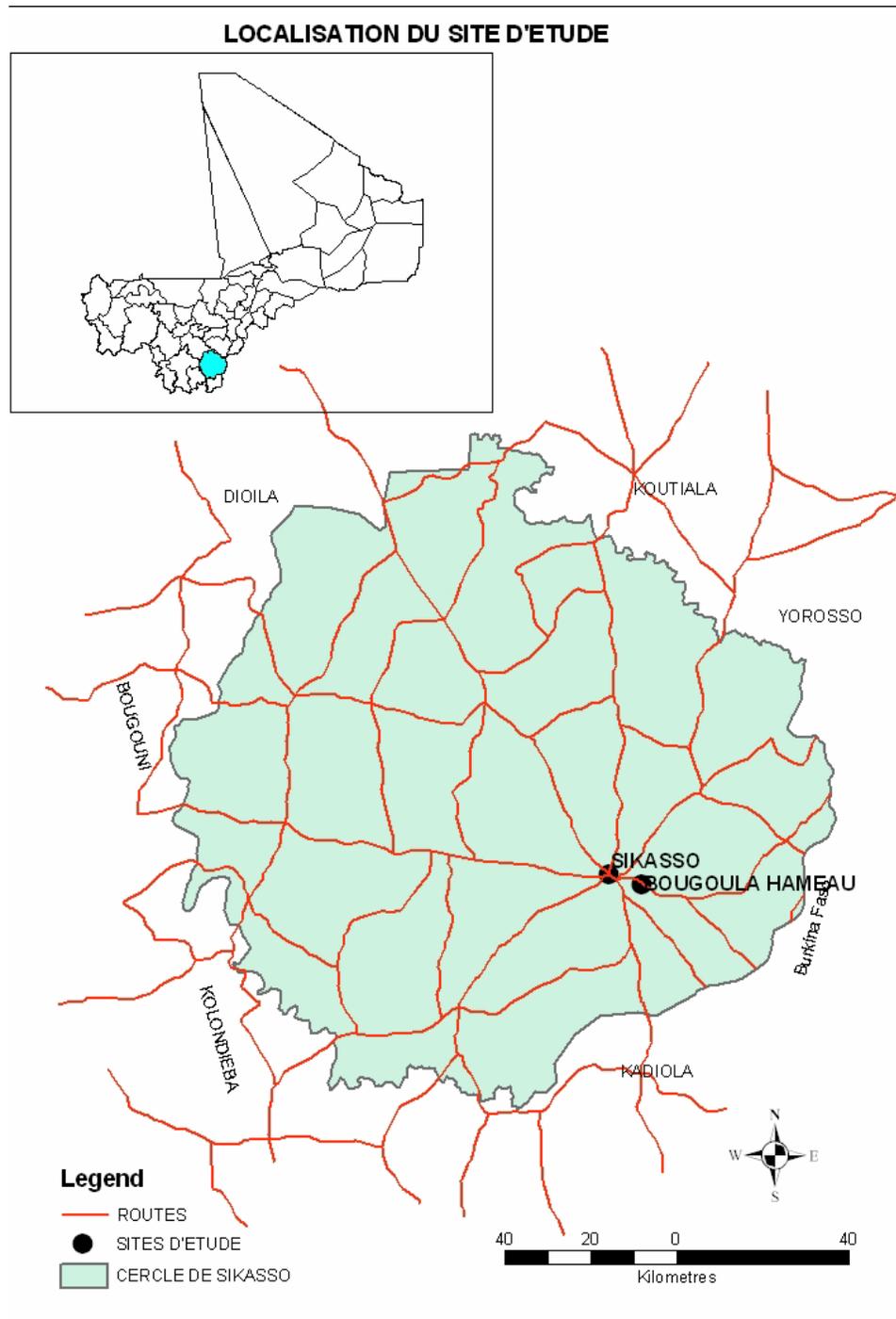


Figure.4: Carte du Mali montrant le cercle de Sikasso et la position du site d'étude.

L'étude s'est déroulée à Bougoula Hameau. C'est un quartier péri urbain situé à 5 Kms à l'Est de la ville de Sikasso à cheval sur la route de Burkina Faso. Il est limité au Nord par Sabalibougou, au Sud par Momobougou, à l'Ouest par Sikasso à l'Est par Kafela. Il est situé à 11° 21 latitudes Nord et 5° 11 longitudes Ouest.

3.1.1. HISTORIQUE

Bougoula fut créé par Massa Daoula Traoré dit Sékou (1845-1860). Il est originaire de Kong. Grand chasseur qu'il fut il a été conseillé par ses prédicateurs d'aller s'installer en un endroit situé entre deux marigots « KOFILABING » où les animaux viennent s'abreuver, pour avoir plus de gloire.

Il est d'abord venu à Finkolo (Est de Bougoula) qui est aussi un endroit où deux marigots se croisent ; mais ses prédicateurs indiquèrent que Finkolo n'est pas son lieu de prestige. Par sa chasse il a découvert Bougoula qui se trouve entre trois marigots, où la végétation était caractérisée par de grandes herbes parsemées d'arbres géants et où il y avait beaucoup d'animaux sauvages. Au cours de ses chasses l'endroit où il se reposait a été aménagé en un lieu d'habitation.

Après le compte rendu du lieu à ses prédicateurs, ils lui ont dit que c'est maintenant qu'il a découvert son emplacement (Bougou= case).

A Bougoula, il faisait le tissage des habits de chasse et de guerre et aussi la formation des guerriers. Il fut le véritable fondateur du Kéné Dougou et de la dynastie des Traoré. Il fit ainsi de Bougoula la première capitale du royaume.

Daoula désormais appelé Massa Daoula Traoré mourut à la suite d'un empoisonnement par une femme déguisée au cours d'une dernière expédition à Bama (vers le Burkina) ; Son corps fut transporté dans la peau d'une vache rouge jusqu'à Bougoula, sa capitale où il fut enterré dans sa case qui est l'un des sites touristiques de Sikasso.

Aujourd'hui Bougoula est un quartier péri urbain situé à cheval sur l'axe routier Sikasso Burkina Faso. Il est divisé en deux parties : Sokoro (ancien quartier) et Sokoura (nouveau quartier). L'actuel chef du quartier est Sounkalo Koné.

3.1.2. CLIMAT VEGETATION ET SOLS

3.1.2.1. CLIMAT

Le climat est de type soudanien. Il est sous l'influence de la zone forestière humide avec une période pluvieuse pouvant atteindre 100 jours de pluies par an. Cet avantage climatique donne au quartier une vocation agricole de premier ordre. Le climat se divise en trois saisons :

*une saison sèche fraîche (de Novembre à Février), pendant laquelle le quartier bénéficie des températures douces. Durant cette période le quartier est balayé par l'alizé continental;

* une saison sèche chaude (de Mars à Avril), pendant laquelle les maxima de températures sont enregistrés. Pendant ces mois le quartier subit la confrontation de l'alizé marin et de l'alizé continental avec la prédominance du dernier. Cette période correspond à un temps mort pour les travaux champêtres ;

*une saison pluvieuse (de Mai à Octobre), pendant laquelle les maxima pluviométriques sont atteints à Bougoula. Le facteur dominant de la saison des pluies ou hivernage est le régime de la mousson.

3.1.2.2. VEGETATION : FLORE ET FAUNE

Bougoula se trouve dans la zone soudanienne dominée par une savane arborée avec des hautes herbes parsemées de grands arbres. Tout au long des cours d'eau, la végétation est plus dense et forme la forêt-galerie.

3.1.2.2.1. FLORE : elle est constituée par les espèces suivantes :

Butyrospermum parkii (le karité), *Parkia biglobosa* (le néré), *Adansonia digitata* (le baobab), *Khaya senegalensis* (le caïlcédrat), *Ceiba pentandra*

(le fromager), *Isobertina doka* (le so=bambara), *Guiera Senegalensis* (le kundiè=bambara), *Cola cordifolia* (le n'taba =bambara), *Tamarindus indica* (le tamarinier), *Bombax costatum*(le kapokier) ;

Les principales herbes sont des graminées vivaces : *Andropogon gayanus* (le waga =bambara), *Pennisetum pedicellatum*(le n'goolo =bambara) qui constituent un tapis verdoyant pendant la saison pluvieuse. La végétation est brûlée chaque année et le tapis herbacé prend la couleur jaune cendre.

3.1.2.2.2. FAUNE

Parmi les insectes d'importance médicale on rencontre : les Anophèles, les Culex, les Mansonia, les Pharoensis, les Phlébotomes.

Parmi les vertébrés on rencontre : les reptiles, plusieurs espèces d'oiseaux et de petits mammifères.

3.1.2.3. SOLS

La surface du sol est constituée par un terrain argilo-silicieux, on y rencontre en abondance des pyrites de fer sur les plateaux, du gré sur les pentes et du granite sur les hauteurs [4]. La terre est fertile et favorable à l'agriculture.

3.1.3. RELIEF ET HYDROGRAPHIE

Le relief est composé de plateaux et de collines de faible altitude. Bougoula se trouve entre trois marigots :

- à l'entrée se trouve le FARAKO qui prend sa source à Sirakoro sur la route de Bouaké;
- le quartier est traversé par le N'GORONI qui prend sa source à Bougoula ;
- à la sortie se trouve le KOBA qui prend sa source à Momobougou au Sud du quartier.

L'eau du KOBA ne tarit pas complètement durant la saison sèche. Ainsi des gîtes larvaires de moustiques peuvent se rencontrer toute l'année.

3.1.4. DEMOGRAPHIE

La population de Bougoula s'élève à 5000 habitants répartie en deux blocs [34]. En plus des Sénoufos qui constituent l'ethnie dominante (95%), les Bambara, les Malinkés, les Bobo, les Sonrhäï, les Haoussa, les Samoko et les Mossi se partagent les (5%).

Les religions dominantes sont : l'islam et l'anémisme. Il existe cependant quelques protestants et catholiques.

Dans le quartier on rencontre trois types d'habitations :

- des cases rondes avec toit conique en paille ;
- des maisons rectangulaires avec toit en tôle, les plus fréquentes ;
- des maisons rondes ou rectangulaires avec toit en terrasse.

Tous ces types de maisons constituent des lieux de repos pour les moustiques.

A coté des habitations humaines existent des enclos de branchages servant de bergerie, de petits enclos pour les porcs et la volaille. Il existe aussi des cases servant de greniers.

3.1.5. ACTIVITES ECONOMIQUES

Les activités économiques sont essentiellement basées sur l'agriculture et on distingue trois groupes de cultures :

- les cultures vivrières : mil, maïs sorgho, riz, arachide, haricot, manioc, patate, fonio, dah, coton ;
- les cultures maraîchères : pomme de terre, igname, tomate, aubergine, gombo, oignon, fourchettes, salade, carotte, choux, concombre, piment;
- les cultures fruitières : manguiers, bananiers, orangers, papayers, mandariniers, fromangiers (banan), goyaviers.

Les produits de cueillette sont : les noix de Karité ; les fruits de Néré, de Tamarinier, du Zaban.

L'élevage, la pêche, l'artisanat constituent une activité secondaire : la pêche est pratiquée dans les marigots, alors que la forge et la tannerie sont les principales activités de l'artisanat local. On élève des bovins, des caprins, des ovins, des porcins et de la volaille.

3.1.6. ORGANISATION ADMINISTRATIVE

Bougoula est dirigé par un chef de quartier plus cinq conseillers.

La chefferie se fait par un consensus des habitants du quartier. Ce dernier sera annoncé au Maire de Sikasso qui lui fera porter son chapeau de chef au cours de l'intronisation. De sa création à nos jours Bougoula a connu six chefs de quartier qui sont : N'golo Wattara, Féry Koné, Lamissa Traoré, Daouda Traoré, Kader Berthé et Soukalo Koné.

3.1.7. INFRASTRUCTURES

Bougoula dispose d'un centre de santé composé d'une maternité et d'un dispensaire ; dirigé par un infirmier diplômé d'état. Il existe une école fondamentale (de six classes), une Medersa, un centre d'éducation pour le développement (CED) et trois Mosquées.

3.1.8. JUSTIFICATION DU CHOIX DE BOUGOULA

*l'étroite relation entre le DEAP et le quartier de Bougoula ;

*l'accès facile du quartier en toute saison ;

*Bougoula a été le lieu de plusieurs études du DEAP par le passé ;

*le paludisme est endémique à Bougoula avec un indice plasmodique (IP) situé entre 40 et 50% en saison sèche (qui va de janvier à juin) et entre 70 et 85% en saison pluvieuse (qui va de juillet à décembre)

Tableau .1 : Les informations météorologiques de la station de la ville de Sikasso en 2005.

Mois	Température°C		Humidité relative %	
	Maximum	minimum	Maximum	minimum
Janvier	31.9	18.3	42.0	20.0
Février	36.2	23.8	36.0	24.0
Mars	38.0	25.9	38.0	26.0
Avril	37.8	25.9	38.0	26.0
Mai	34.7	24.2	35.0	24.0
Juin	32.3	23.1	90.0	56.0
Juillet	30.4	22.0	94.0	64.0
Aout	29.6	21.5	95.0	68.0
Septembre	31.2	21.7	94.0	59.0
Octobre	31.7	22.0	86.0	44.0
Novembre	35.3	20.2	72.0	24.0
Décembre	34.2	18.0	53.0	17.0

Source : Direction Régionale de la Météo de Sikasso.

Tableau II : Relevés pluviométriques de Sikasso 2005.

Mois	mm d'eau	Nombres de jours de Pluies
Janvier	0	0
Février	0	0
Mars	9,4	3
Avril	54,5	6
Mai	103,9	13
Juin	149,1	13
Juillet	209,8	19
Août	303,3	23
Septembre	196,6	17
Octobre	49,7	6
Novembre	0	0
Décembre	0	0
Total	1076,3	100

Source : Direction Régionale de la Météo de Sikasso.

3.2. Type d'étude:

Les enquêtes parasito-cliniques ont été faites de manière longitudinale tandis que les études entomologiques ont été faites de manière longitudinale et transversale, avec des passages mensuels répétés.

3.3. Période d'étude

L'étude s'est déroulée de Juillet 2005 à Janvier 2007.

3.4. Echantillonnage

Pour l'étude de la transmission 120 cases ont été choisies de façon aléatoire sur l'ensemble des familles de Bougoula Hameau. L'étude de l'infestation expérimentale a porté sur des porteurs de gamétocytes âgés de 6-15 ans avant traitement (J0) et après traitement (J3, J7, J14, J21 et J28).

Les critères d'inclusion étaient

- Etre âgé de 6 à 15 ans ;
- Etre capable de recevoir un traitement par voie orale ;
- Avoir une température axillaire $>$ ou $= 37,5^{\circ}\text{C}$ pour la première inclusion ;
- Avoir une infection aux espèces plasmodiales avec une densité parasitaire comprise entre 2000 à 200000 formes asexuées par millimètre cube de sang pour la première inclusion ;
- Présence de gamétocytes avant traitement (J0) et/ou après traitement (J3, J7, J14, J21 et J28) ;
- Avoir un taux d'hémoglobine $> 5\text{g / dl}$;
- Résider dans le quartier de Bougoula durant toute la durée du suivi ;
- Obtenir le consentement éclairé de chaque participant ou des parents (tuteurs légaux) pour les enfants.

Les critères de non inclusion étaient

- Présence de signes cliniques de paludisme grave ou de neuro paludisme : coma, troubles de la conscience, convulsions récentes et répétés, œdème aigu du poumon, impossibilité de boire, vomissements répétés, hémoglobinurie macroscopique, ictère, choc hémorragique, (tension systolique < 70 mm hg chez l'adulte, < 50 chez l'enfant), saignements spontanés,
- Pathologie concomitante sévère ; Hypoglycémie (< 40 mg/dl), insuffisance rénale (créatinémie > 3 mg/dl), anémie sévère avec taux d'hémoglobine < ou = 5 g/dl ;
- Allergie connue à l'un des médicaments.

3.5. Considérations éthiques

Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) de l'université Bamako. Une rencontre a été organisée entre les représentants du laboratoire, le Chef du quartier et ses conseillers pour expliquer les objectifs du travail. Après accord, les conseillers ont informé les chefs de familles. Le travail a été exécuté après accord du comité d'éthique de la FMPOS et consentement éclairé, écrit et signé de la communauté de Bougoula représenté par le chef du quartier et un conseiller. En ce qui concerne, les pulvérisations intradomiciliaires, aucune case n'a été pulvérisée sans l'avis favorable de son propriétaire. L'insecticide utilisé était un pyréthrynoïde de synthèse commercialisée sous le nom de Premium^R qui était bien connu et apprécié par la population locale. Ce produit est reconnu non toxique dans les conditions normales d'utilisations. Néanmoins nous avons pris la précaution de débarrasser les cases de tous les aliments susceptibles d'être souillés. Le produit est d'une rémanence faible et la case traitée était réutilisée 10 minutes après la pulvérisation.

3.6. Etude de la transmission

3.6.1. Collection des moustiques

Les moustiques ont été capturés selon deux méthodes : la capture de nuit sur appât humain (CN) et la capture de jours par pulvérisation d'insecticide à l'intérieur des habitations (spray- catch).

3.6.1.1. Capture de nuit

Les séances de capture de nuit ont été effectuées de 18h à 6h du matin. Quatre séances de captures ont été effectuées par passage. A chaque séance deux postes de capture étaient choisis, avec deux captureurs par poste dont l'un à l'intérieur et l'autre à l'extérieur pour assurer la collection à l'aide d'un aspirateur à bouche des moustiques qui se poseraient sur leurs membres inférieurs dénudés. Les pots de collection étaient changés par tranche horaire de deux heures. Puis, ces pots étaient placés dans des caissons recouverts de serpillères mouillées pour maintenir les moustiques dans des conditions de température et d'humidité convenables avant la dissection le lendemain matin.

3.6.1. 2. Capture de jours

Elle a consisté à pulvériser les habitations à l'aide d'insecticide (Premium®). Quatre séances de captures étaient organisées à chaque passage à raison de 30 cases prospectées par séance. Les captures ont lieu les après midi entre 15 heures et 18 heures. Pour chaque case prospectée le nombre de dormeurs, le nom du propriétaire et le type de case sont indiqués sur une fiche de collecte de données. Avant la pulvérisation, portes et fenêtres ainsi que les ouvertures de la chambre sont fermés. Les aliments pouvant être contaminés par l'insecticide sont retirés de la maison. Des draps blancs sont ensuite étalés sur le planchet de la maison. L'insecticide est pulvérisé un peu partout à l'intérieur de la case. La porte est maintenue close pendant environ 5 mn. Au bout de ce temps, on ouvre et les moustiques morts ou moribonds tombés sur les

draps sont collectés. Les moustiques sont mis case par case dans des flacons de 2ml contenant du fixateur de Carnoy. Le fixateur de Carnoy est un mélange composé d'une partie d'acide acétique glacial (CH_3COOH) dans trois parties d'éthanol absolu ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). A l'intérieur de chaque flacon est introduite une étiquette portant le numéro d'identification de la chambre et la date de capture. Ces flacons sont gardés à la température ambiante jusqu'au lendemain avant la dissection.

3.6.2. Traitement des échantillons

Les moustiques collectés en CN étaient morphologiquement identifiés en espèce *An. gambiae s.l* et *An.funestus*.

Les ovaires des femelles étaient étalés sur la lame et lus au microscope pour déterminer la parité selon la technique de Déténova basée sur l'état de déroulement ou d'enroulement des trachéoles ovariennes [17]. La portion tête thorax était conservée dans le fixateur de Carnoy pour déterminer le taux d'infection par la technique ELISA [7].

Les moustiques obtenus en capture de jour étaient identifiés morphologiquement en espèce *An. gambiae s.l. et An. funestus*. La portion tête thorax était conservée dans le fixateur de Carnoy pour déterminer le taux d'infection par la technique ELISA [7]. Le reste du repas de sang contenu dans l'estomac des moustiques femelles gorgées et semi gravides conservés dans le fixateur de Carnoy était identifié par la technique ELISA [6] en vue de déterminer le taux d'anthropophilie des espèces vectrices.

3.7. Organisation du personnel

L'équipe parasito-clinique était composée de trois médecins, de deux biologistes et de trois guides. L'équipe entomologique était composée d'un biologiste, d'un thésard en pharmacie qui dirigeait les séances d'infestation expérimentale sur le terrain et de deux guides.

3.8. Dépistage

Il consistait à identifier les porteurs de gamétocytes dans la population d'enfants sélectionnés âgés de 6 à 18 ans par la technique de goutte épaisse. Les enfants sont identifiés par famille, avec un numéro d'enregistrement, âge, sexe, nom du père et de la mère. Un billet leur est remis comportant : le nom, le prénom et le numéro d'identification.

Tous les malades ont bénéficié d'une fiche individuelle d'enquête, d'un examen clinique complet et de prélèvements de sang pour la réalisation des examens biologiques.

L'examen clinique initial comportait : l'accueil, l'interrogatoire, l'auscultation, la palpation, la prise de la tension artérielle, la prise de la fréquence respiratoire, la pesée, la prise de la température. La recherche d'une splénomégalie chez les enfants était faite par la palpation et les stades sont déterminés selon la classification de Hackett.

3.9. Goutte épaisse

3.9.1. Prélèvement et mode opératoire

Matériels

Lames porte-objet ;

Vaccinostyles stériles ;

Coton hydrophile ;

Alcool à 90% ;

Boîte à OMS;

Râtelier ;

Séchoir ; poubelle.

Principe

Asseoir le malade et le rassure ;

Nettoyer le bout du doigt (annulaire ou majeur) de l'enfant avec un tampon d'alcool, Piquer à l'aide du vaccinostyle, essuyer la première

goutte avec du coton sec, déposer la seconde goutte sur une lame comportant le numéro d'identification du sujet ainsi que la date du prélèvement ; après la confection de la goutte la lame est placée dans la boîte à OMS, ensuite les lames sont transférées sur le râtelier pour le séchage soit à l'aide d'un séchoir soit au soleil pendant 15-20mn .

3.9.2. Coloration et lecture des lames

Matériels et réactifs

Eau distillée à pH= 7,2

Bac de coloration ;

Râtelier ;

Éprouvette graduée ; Giemsa

Procédure

Faire une dilution du Giemsa à 10% avec de l'eau tamponnée et renversée la solution dans le bac de coloration, placer les lames « dos à dos » dans le bac de coloration, attendre 15 mn, rincer les lames à l'eau distillée et les faire sécher sur le râtelier ;

Lire les lames au microscope optique à l'objectif 100 en immersion.

3.10. Convocation des porteurs

Après la lecture des lames, les cliniciens informaient les parents ou tuteurs légaux des porteurs ainsi que les porteurs eux-mêmes de la séance d'infestation directe. Après consentement, les porteurs ont été acheminés vers le petit soir au dispensaire et ont été soumis au direct-feeding (repas de sang par contact direct).

3.11. Etude de l'infestation expérimentale

3.11.1. Elevage des moustiques

Les moustiques étaient élevés dans les conditions semi naturelles dans une chambre servant d'insectarium à Bougoula. C'était une chambre non crépue de toit en tôle. La porte et la fenêtre était opposée présentant chacune deux fermetures : la première fermeture de la porte était en bois et tôle, la deuxième en bois et grillage ; pour la fenêtre la première était en fer de modèle orientable, la deuxième en bois et grillage.

A l'extérieur se trouvait un hangar de 2m carré de surface, 3m de hauteur et de toit en plastique. Le pourtour du hangar était fait de tôle et de bois vers le bas, le haut était libre permettant la circulation de l'air dans la chambre. Une table était placée à l'extérieur servant de support pour les plateaux contenant les œufs et les larves. A l'intérieur se trouvait deux tables : une servant de support pour les plateaux contenant les œufs et les larves, l'autre servant de support pour les imagos dont les quatre pieds étaient introduits dans des tasses en aluminium contenant de l'huile permettant d'éviter la montée des fourmis vers les adultes.

Les moustiques étaient maintenus à une température comprise entre 20 et 28°C le matin, 23 et 27°C à midi, 26 et 30°C le soir ; avec une humidité relative comprise entre 56 et 72% le matin, 42 et 43% à midi, 38 et 40% le soir. Le sol de l'insectarium était arrosé une à trois fois par jour pour maintenir l'humidité relative un peu constante.

Les femelles sauvages étaient capturées dans les habitations humaines avec des aspirateurs à bouche. Après le tri, elles étaient transférées dans une cage moyenne et le pondoir y était introduit pour la ponte collective.

Après la ponte, les œufs étaient transférés dans un plateau en plastique contenant de l'eau désionisée ou souvent de l'eau du puits ; avec un

papier flotteur pour maintenir les œufs en surface. Au bout d'un à deux jours, parfois quatre jours les œufs éclosaient. Après quatre stades de transformation (L1, L2, L3, L4), les larves donnaient des nymphes. Les larves étaient nourries de poudre d'aliments à base de lait, calcium, et des sels minéraux (friskies® : aliment de chats). La quantité de cette poudre d'aliments augmentait avec le stade d'évolution des larves et le nombre de larves dans les plateaux. La division des plateaux s'effectuait en fonction de la quantité de larves, ceci pour avoir de gros adultes ; l'ajout d'eau dans les plateaux se réalisait chaque deux jours et le renouvellement d'eau se faisait une à deux fois avant le stade nymphal. Au bout d'un à deux jours la nymphe donnait l'adulte (l'imago). De l'œuf à l'émergence, il y avait en moyenne huit à douze jours dans nos conditions d'élevage.

Les imagos étaient nourris de jus sucré à 5 % à travers du coton imbibé déposé sur la cage qui les contient. Le jus était renouvelé chaque jour.

3.11.2. Infestation expérimentale proprement dite :

Les générations F₁ néonates âgées de 2 à 5 jours nourries uniquement au jus sucré (eau sucrée à 5%) étaient utilisées pour l'infestation. Ces F₁ mises à jeûn du matin au soir étaient triées à raison de 25 à 30 femelles par pot (en carton). Ces pots étaient fermés par des morceaux de tulle maintenu à l'aide de bracelets en plastique. Des inscriptions étaient portées sur les pots indiquant : la localité, la date d'émergence, la date de l'infestation, et le numéro d'identification du porteur.

Les porteurs de gamétocytes identifiés avant traitement (J0) et après traitement (J3, J7, J14, J21 et J28) étaient retenus pour la dite infestation (direct feeding), afin de juger l'infectivité des gamétocytes.

Deux pots contenant chacun 25 à 30 moustiques étaient appliqués sur les jambes des porteurs pendant 10 -15 mn. Après la séance

d'infestation, une crème anti inflammatoire et anti prurigineuse (Eurax) était appliquée au point de piqûre, chez ceux qui manifestaient une réaction locale au niveau du point de piqûre.

Les moustiques non gorgés étaient retirés des pots à l'aide d'un aspirateur de transfert et ceux gorgés étaient transportés à l'insectarium où du coton imbibé de jus sucré à 5% était mis sur chaque pot.

Le jus était renouvelé chaque jour jusqu'au 8^e jour où ils étaient disséqués pour la recherche des oocystes.

3.11.3. Attribution des traitements

Tous les traitements ont été administrés au centre de santé de Bougoula Hameau au jour le jour. Durant les trois jours du traitement (J0, J1, J2) les médicaments étaient administrés oralement en une seule prise ou en deux prises selon le bras de traitement devant le personnel soignant. En cas de vomissement dans les 30 mn qui suivent l'ingestion de la dose, la dose totale était ré-administrée. Les sujets étaient assignés à l'un des bras de traitement de façon aléatoire selon leur ordre d'inclusion et la liste de randomisation préalablement établie. La personne désignée à l'attribution des traitements complétait la liste de randomisation en inscrivant à côté de chaque numéro, le nom et prénom, l'identification du patient, ainsi que son poids et le nombre précis de comprimés de chaque produit administré par jour.

Les schémas thérapeutiques étaient les suivants:

Bras1 : Artésunate AS (50mg) +Sulfadoxine Pyriméthamine SP (cp 500mg S +25mg P).

AS+SP était sous forme Arsumax et Fansidar.

Bras2: Artésunate AS (50mg) +Amodiaquine AQ (cp 153mg base).

AS+AQ était sous forme d'Arsucam.

Bras3 : Artémether-luméfantrine AR-L (cp 20mg AR +120mg L).

AR-L était sous forme de Coartem

Tableau III : Les schémas thérapeutiques.

		Nombre de comprimés et durée de traitement			
Bras de traitement	Poids	J0	J1	J2	
AS + SP	≤10 Kg	½ Cp AS +1/2 Cp SP	½ Cp AS	½ Cp AS	
	11-20 Kg	1 Cp AS +1 Cp SP	1 Cp AS	1 Cp AS	
	21-40 Kg	2 Cp AS +2 Cp SP	2Cp AS	2 Cp AS	
	≥41 Kg	4 Cp AS +4 Cp SP	4 Cp AS	4 Cp AS	
AS + AQ	< 10 Kg	½ Cp AS +1/2 Cp AQ	½ Cp AS +1/2 Cp AQ	½ Cp AS +1/2 Cp AQ	
	10-20 Kg	1Cp AS +1 Cp AQ	1 Cp AS +1 Cp AQ	1Cp AS +1 Cp AQ	
	21-40 Kg	2 Cp AS +2 Cp AQ	2 Cp AS +2 Cp AQ	2 Cp AS +2Cp AQ	
	≥41 Kg	4 Cp AS +4 Cp AQ	4Cp AS +4 Cp AQ	4 Cp AS +4 Cp AQ	
AR-L	5 – 14 Kg	1Cp matin, 8H après 1Cp	1Cp matin, 1Cp soir	1Cp matin, 1Cp soir	
	15 -24 Kg	2Cp matin, 8H après 2Cp	2Cp matin, 2Cp soir	2Cp matin, 2Cp soir	
	25 -34 Kg	3Cp matin, 8H après 3Cp	3Cp matin, 3Cp soir	3Cp matin, 3Cp soir	
	≥35 Kg	4Cp matin, 8H après 4Cp	4Cp matin, 4Cp soir	4Cp matin, 4Cp soir	

3.11.4. Dissection des moustiques

Au huitième jour de l'infection les moustiques étaient disséqués et les oocytes comptés au niveau de la paroi stomacale de façon individuelle.

3.11.4.1. Mode opératoire

Agiter le pot contenant les moustiques pour les assommer sans les écraser puis les mettre dans une boîte de Pétri contenant du papier absorbant mouillé. Ce qui permettait aux moustiques de ne pas s'échapper. Une goutte de mercurochrome était déposée sur la lame porte-objet. Le moustique était déposé dans la goutte sur le dos.

A l'aide de la loupe appuyer avec l'aiguille au niveau du deuxième segment partant du thorax et maintenir la pression. Par la pince tirer sur les deux derniers segments d'un mouvement continu et doux. L'estomac était ainsi extrait avec les ovaires et/ou les œufs et les tubes de Malpighi. Enlever les autres éléments et bien étaler l'estomac pour la lecture au microscope entre lame et lamelle. Sur une fiche, était indiquée la présence ou l'absence d'oocytes. Dénombrer les oocytes par estomac et porter sur la fiche.

3.11.4.2. Matériels

- Loupe binoculaire
- Microscope
- Pince
- Aiguille montée
- Mercurochrome a 0,5%
- Lame porte-objet
- Lamelles
- Boîtes de Pétri
- Papier genre utility wipes

3.12. Saisie et analyse des données

Les données ont été enregistrées sur des fiches de base ; saisies sur Excel. Les analyses ont été effectuées sur SPSS 12.0 et Epi-info 6.

RESULTATS

4. RESULTATS

4.1. Transmission

4.1.1. Composition vectorielle

De Juillet, Octobre 2005, et mars 2006 un total de 1254 moustiques a été capturé. La population anophélienne vectrice du paludisme était composée à 99,84% d'*An. gambiae s.l* et à 0,16% d'*An. funestus*.

4.1.2. Densité par case à partir des captures de jour

Tableau IV : Densité par case d'*An. gambiae s.l* pendant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.

Mois	Nb de moustiques capturés	Nb de cases prospectées	Densité	Intervalle de confiance à 95%
Juillet	595	120	4,96	3,64-6,28
Octobre	646	120	5,41	3,76-7,06
Mars	11	120	0,09	0,03-0,15

Nb = Nombre

La densité a varié de 0,09 moustique/case en Mars (saison sèche) à 5,41moustiques/case en Octobre (fin de la saison pluvieuse).

4.1.3. Agressivité

4.1.3.1. A partir des captures de jour

Tableau V : Agressivité (nombre moyen de piqûres par homme et par mois) d'*An. gambiae s.l* en captures de jour durant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.

Mois	Nb de dormeurs	Nb de moustiques	m.a (p/h/mois)	Intervalle de confiance à 95%
Juillet	452	357	23,69	21,26-39,69
Octobre	462	454	29,48	22,50-40,24
Mars	451	6	0,40	-0,003-1,17

m.a = agressivité ; p/h/mois = piqûres par homme et par mois

L'agressivité la plus élevée a été observée au cours du mois d'Octobre 2005 (29,48 piqûres par homme) et la plus faible agressivité a été observée au mois de Mars (0,40 piqûre par homme).

4.1.3.2. A partir des captures de nuit

En captures de nuit, l'agressivité a été 7,88 piqûres par homme au mois de Juillet (N=126) et 26,06 piqûres par homme au mois d'Octobre (N=417). Au mois de Mars aucun moustique n'a été capturé au cours des captures de nuit.

4.1.4. Taux de parité

Le taux de parité observé a été de 93% (N= 99) au mois de Juillet et de 96% (N=304) au mois d'Octobre.

4.1.5. Taux d'infection

Tableau VI : Taux d'infection d'*An. gambiae s.l* pendant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.

Mois	Nb traités	Nb positifs	IAS (%)
Juillet	711	23	3,23
Octobre	949	44	4,64
Mars	11	1	9,09

IAS = Indice d'antigène sporozoïtique

Les taux d'infection ont varié de 3,23% (n=711) en Juillet à 9,09% (n=11) en Mars. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les taux d'infection ($X^2=2,76$ ddl =2; p=0,25).

4.1.6. Taux d'anthropophilie

Tableau VII : Taux d'anthropophilie d'*An. gambiae s.l* durant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.

Mois	Nb traites	Nb positifs Humain	T.A (%)
Juillet	198	186	94
Octobre	244	220	90
Mars	4	3	75

Nb = nombre ; T.A = Taux d'anthropophilie

Le taux d'anthropophilie le plus élevé a été observé au mois de Juillet 94% et le plus faible au mois de Mars 75%.

4.1.7. Taux d'inoculation entomologique

4.1.7.1. A partir des captures de jour

Tableau VIII: Taux d'inoculation entomologique mensuel d'*An. gambiae s.l* en captures de jour pendant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.

Mois	m.a	I.A.S	T.I.E
Juillet	23,69	0.0323	0,77
Octobre	29,48	0,0464	1,37
Mars	0,40	0,0909	0,04

T.I.E = Taux d'inoculation entomologique

Les taux d'inoculation entomologique étaient faibles au cours de l'étude. Le taux le plus élevé a été observé au mois d'Octobre (T.I.E= 1,37) avec plus d'une piqûre infectante par mois et par homme.

4.1.7.2. A partir des captures de nuit

Tableau IX: Taux d'inoculation entomologique mensuel d'*An. gambiae s.l* en captures de nuit durant les mois de Juillet, Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.

Mois	m.a	I.A.S	T.I.E
Juillet	7,88	0.0323	0,25
Octobre	26,06	0,0464	1,21
Mars	0	0,0909	0

Le tableau VII montre que plus d'une piqûre infectante par mois et par homme a été observée au mois d'Octobre (T.I.E= 1,21).

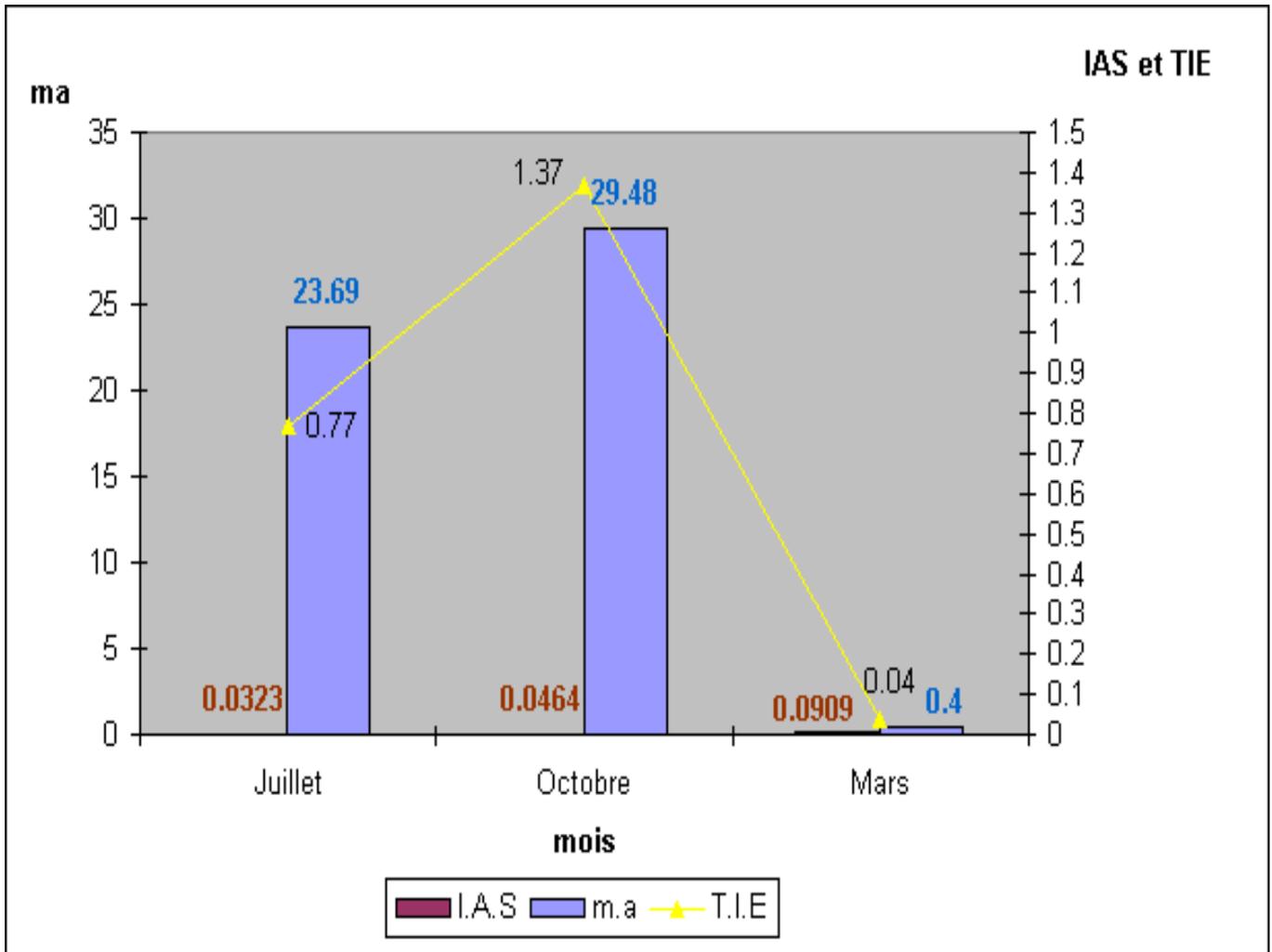


Figure 5: Variations mensuelles des indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme de Juillet, d’Octobre 2005 et Mars 2006 à Bougoula Hameau.

4.2. Infestation expérimentale

Tableau X: Répartition des porteurs de gamétocytes par groupes d'âge avant et après traitement au cours de l'infestation expérimentale à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.

Groupe Age	Avant traitement		Après traitement	
	Nb porteurs	%	Nb porteurs	%
6-9 ans	17	77	28	88
10-15 ans	5	23	4	13
Total	22	100	32	100

Nb= nombre

Le plus grand nombre de porteurs au cours des séances d'infestation expérimentale se retrouve dans le groupe d'âge inférieur (6-9 ans) que ce soit avant (77%) ou après (88%) le traitement antipaludique administré.

Tableau XI : Potentiel Infectieux des porteurs de gamétocytes (avant et après traitement) en fonction des groupes d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.

Groupe Age	Avant traitement			Après traitement		
	Nb porteurs	Nb infectants	%	Nb porteurs	Nb infectants	%
6 – 9 ans	17	10	60	28	13	46
10 –15 ans	5	1	20	4	4	100
Total	22	11	50	32	17	53

Onze porteurs sur vingt deux (soit 50%) ont infecté avant traitement tandis que dix sept sur trente deux (soit 53%) ont infecté après traitement. Cependant il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les porteurs de gamétocytes quant au potentiel infectieux

($X^2=0,05$;ddl =1; p=0,82).

Tableau XII : Taux d'infection des moustiques avant et après traitement en fonction du groupe d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.

Groupe Age	Avant traitement			Après traitement		
	T disséqués	T infectés	%	T disséqués	T infectés	%
6-9 ans	527	82	16	963	112	12
10-15 ans	201	5	3	151	94	62
Total	728	87	12	1114	206	19

T= total

Avant traitement les moustiques gorgés sur les porteurs de la tranche 6-9 ans ont été plus infectés (16%) par contre après traitement ceux gorgés sur les porteurs de la tranche 10-15 ans ont été plus infectés (62%). Il y a une différence statistiquement significative quand aux taux d'infection des moustiques entre les groupes d'âge que ce soit avant ($X^2=22,54$; ddl =1; p=0,000002) ou après traitement ($X^2=251,09$; ddl =1; p <10⁻⁶).

Tableau XIII: Taux d'infection des moustiques en fonction des bras de traitement à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.

Bras de traitement	Après traitement		
	T disséqués	T infectés	%
AS+SP	602	48	8
AS+AQ	224	77	34
AR-L	288	81	28
Total	1114	206	18

Les moustiques gorgés sur les porteurs traités à la combinaison AS+SP ont été moins infectés (8%) que ceux gorgés sur les porteurs traités à la combinaison AS+AQ (34,4%). Une différence statistiquement significative a été observée entre les bras de traitement quant à l'infectivité des moustiques gorgés sur les porteurs de gamétocytes ($X^2=99,41$; ddl =2; p <10⁻⁶).

Tableau XIV : Répartition de la charge oocystique avant et après traitement en fonction du groupe d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.

Groupe Age	Avant traitement			Après traitement		
	Charge			Charge		
	0-2	3-5	>5	0-2	3-5	>5
6-9 ans	34	17	31	36	24	52
10-15 ans	2	3	0	11	8	75
Total	36	20	31	47	32	127

Aucune différence significative n'a été observée dans la répartition de la charge oocystique avant traitement en fonction du groupe d'âge ($X^2=5,054$; $ddl=2$; $p=0,080$); alors qu'après traitement cette différence est statistiquement significative entre les groupes d'âge ($X^2=24,074$; $ddl=2$; $p<10^{-3}$).

Tableau XV : Répartition de la charge oocystique en fonction du traitement reçu et du groupe d'âge à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.

Sujets Traitement	Groupe Age	Après traitement		
		Charge		
		0-2	3-5	>5
AS+SP	6-9ans	19	14	14
	10-15ans	1	0	0
	Total	20	14	14
AS+AQ	6-9ans	10	5	25
	10-15ans	3	5	29
	Total	13	10	54
AR-L	6-9ans	7	5	13
	10-15ans	7	3	46
	Total	14	8	59

Il y a une différence statistiquement significative dans la répartition de la charge oocystique en fonction du groupe d'âge et du traitement reçu ($X^2=51,54$; $ddl=8$; $p<10^{-6}$).

Tableau XVI : Taux d'infection des moustiques à J0 et à J7 en fonction des bras de traitement à Bougoula-Hameau d'Octobre 2005 à Janvier 2006.

Bras de traitement	J0			J7		
	T disséqués	T infectés	%	T disséqués	T infectés	%
AS+SP	110	16	15	121	13	11
AS+AQ	33	1	3	26	26	100
AR-L	44	35	80	32	19	60
Total	187	52	28	179	58	33

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative quand aux taux d'infection des moustiques ni à J0 ni à J7 pour le bras thérapeutique AS+SP (15% vs 11%) et pour le bras AR-L (80% vs 60%). Par contre cette différence était hautement significative entre J0 et J7 pour le bras AS+AQ (3% vs 100%),

[$\chi^2=55,09$; $p<10^{-6}$].

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Il ressort de cette étude que les espèces vectrices du paludisme à Bougoula Hameau étaient composées d'*An. gambiae s.l* à 99,84 % et d'*Anophèles funestus* à 0,16 %. *Anophèles funestus* a été observé seulement au mois d'Octobre (fin de saison pluvieuse).

La densité était élevée au mois d'Octobre (5,41 moustiques/case) ainsi que l'agressivité en captures de jour et de nuit (29,48 et 26,06 p/h/mois).

Le taux de parité est resté élevé au mois de Juillet et d'Octobre (93 et 96%). Cela se traduit par une bonne longévité des moustiques en ces mois. Au mois de Mars aucun moustique n'a été capturé en captures de nuit. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les taux d'infection durant l'étude ($p=0,25$).

Le taux d'inoculation entomologique le plus élevé a été observé en Octobre (fin de saison pluvieuse) avec plus d'une piqûre infectante/homme/mois. Il a été très faible en Mars (saison sèche) moins d'une piqûre infectante.

Les variations du taux d'inoculation expliquent l'intensité de la transmission du paludisme dans cette localité.

Durant l'étude le taux d'anthropophilie est resté élevé (86%). Nos observations sur les paramètres entomologiques excepté l'infection au mois de Mars concordent avec celles rapportées par Traoré Siona., 1993 à Pimperena [42].

Les paramètres entomologiques notamment le taux d'anthropophilie, le taux de parité et le taux d'inoculation entomologique sont superposables avec ceux obtenus par différents auteurs soit dans la même zone, soit dans des zones différentes partageant les mêmes caractéristiques écologiques (Traoré Siona., 1993) à Pimperena ; Amadou Hadiza K. Soumaila. (2004) à Bancoumana ; et Dao Adama (2005) à Doneguebougou [42, 2,15].

Dans cette étude nous avons comparé le potentiel infectieux des porteurs naturels de gamétocytes avant et après traitement. Cela a été possible grâce à la méthode d'infestation directe ou direct-feeding. L'infestation directe a l'avantage d'être plus naturelle, c'est-à-dire que les moustiques sont mis en contact direct avec la peau. En effet, l'odeur humaine pourrait jouer un rôle d'attraction quant on sait qu'*Anopheles gambiae* s.l est anthropophile. Toutefois il ne faut pas perdre de vue que la mise à jeun des moustiques du matin jusqu'au soir avant les séances d'infestations y contribue de beaucoup. Le choix de la tranche d'âge 6 à 15 ans est basé sur les résultats des études antérieures menées à Bancoumana en 1994 et 1995 attestant que les porteurs de gamétocytes de cette tranche infectaient mieux les moustiques que ceux d'âge supérieur à 18 ans (Touré.A et al, 1996) [1].

L'infectivité des gamétocytes (avant et après traitement antipaludique) a été déterminé par rapport à la seule composante « individu ».

Pendant notre étude les colonies issues des femelles sauvages capturées (F1) étaient élevées dans les conditions semi naturelles dans une chambre servant d'insectarium à Bougoula. Les moustiques étaient maintenus à une température comprise entre 20 et 28°C le matin, 23 et 27°C à midi, 26 et 30°C le soir ; avec une humidité relative comprise entre 56 et 72% le matin, 42 et 43% à midi, 38 et 40% le soir. Le sol de l'insectarium était arrosé une à trois fois par jour pour maintenir l'humidité relative un peu constante.

Dans l'étude du potentiel infectieux des groupes d'âge pour les moustiques, les groupes d'âge ayant subi le Direct-feeding avec un régime de traitement antipalustre à base d'Artémisinine, se sont révélés plus infectieux pour les moustiques (53 %) que ceux ayant subi le Direct-feeding sans aucun régime de traitement avec 50% de taux d'infection.

Ces résultats sont superposables à ceux obtenus par Coulibaly (1999) avec 86,4 % ; 77 % par Mulder au Cameroun en 1994 et 33,35 par

Koumaré en 2004 [13, 8, 25] par la même méthode (Direct feeding avant traitement).

La détermination des oocystes de *P. falciparum* chez *A. gambiae s.l.* révèle que 12% des moustiques gorgés sur les porteurs de gamétocytes « sans traitement » ont développé des oocystes ; alors que 19% des moustiques gorgés sur les porteurs ayant reçu un traitement antipalustre ont développé des oocystes.

Dans la tranche d'âge 6-9 ans, 16% des moustiques étaient infectés par les porteurs qui n'ont pas reçu de traitement contre 12% de moustiques infectés par les porteurs ayant reçu un traitement. Quant à la tranche d'âge 10-15 ans, 62% des moustiques étaient infectés par les porteurs ayant reçu un traitement; alors que 3% seulement des moustiques ont été infectés par ceux qui n'ont pas reçu un traitement. La différence entre les deux groupes d'âge que ce soit avant ou après traitement nous permet de dire que : avant traitement les moustiques gorgés sur les porteurs de la tranche 6-9 ans sont les plus infectés par contre après traitement ceux gorgés sur les porteurs de la tranche 10-15 ans sont les plus infectés. Ici il y a une différence statistiquement significative entre nos résultats 12% (taux d'infection en oocyste) avec ceux obtenus par Coulibaly M 38,8 % [13] comme taux d'infection en oocyste en Direct-feeding avant traitement.

La charge oocystique avant traitement en fonction du groupe d'âge n'a pas varié de façon significative; la charge la plus élevée (58) en oocyste a été observée chez les moustiques ayant pris leur repas de sang sur les porteurs de 6-9 ans et une charge minimale d'un oocyste chez les moustiques gorgés sur les porteurs de la tranche d'âge 10-14 ans.

Par contre après traitement une différence de charge oocystique statistiquement significative, a été observée en fonction du groupe d'âge, la charge maximale (211) en oocyste a été observée chez les moustiques

ayant pris leur repas de sang sur les porteurs de 10-15 ans et la charge minimale d' 1 oocyste chez les moustiques gorgés sur les porteurs de la tranche d'âge 6-9 ans.

Ces résultats nous permettent de dire que les gamétocytes retrouvés chez les porteurs après traitement aux combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine sont susceptibles d'infecter les moustiques tout comme les gamétocytes avant traitement.

Il est actuellement connu que l'utilisation de l'Amodiaquine et de la Sulfadoxine-pyriméthamine en monothérapie entraîne une augmentation du taux de portage de gamétocytes [28,38]. Ailleurs une réduction de l'infectivité des gamétocytes induite par l'utilisation de la SP a été constatée [18] et il est aussi connu que les combinaisons réduisent le portage de gamétocytes.

Cependant, les moustiques ayant pris leur repas de sang sur des porteurs de gamétocytes traités à la combinaison AS+SP ont été moins infectés (8%), alors que ceux gorgés sur des porteurs traités aux combinaisons AR-L et AS+AQ ont donné respectivement 28% et 34% d'infection avec une différence statistiquement significative entre les bras de traitement.

D'autre part, les moustiques les plus chargés ont été ceux gorgés sur les porteurs traités à l'AR-L soit 39 % des charges totales ; suivi de ceux des porteurs traités à l'AS+AQ et AS+SP soit 38 % et 23 % des charges obtenues. Ce qui laisse voir une différence statistiquement significative entre les différents régimes de traitement en terme de charge oocystique chez les moustiques infectés.

CONCLUSION

6. CONCLUSION

Dans cette étude basée sur la transmission et sur l'infestation expérimentale des moustiques par les porteurs de gamétocytes avant traitement et des porteurs de gamétocytes après traitement antipaludique, nous avons abordé essentiellement trois questions biologiques en rapport avec les relations entre le vecteur, le parasite et l'hôte intermédiaire. Nous avons observés que la transmission était continue et assurée par *An. gambiae s.l* avec plus d'une piqûre infectante par homme et par mois en Octobre (fin de saison pluvieuse) et moins d'une piqûre infectante par homme et par mois en Mars (saison sèche).

Le pouvoir infectieux des gamétocytes variait en fonction de la tranche d'âge, de la présence ou non de traitement antimalarique et de la nature du traitement reçu. Cela a été possible grâce à la méthode d'infestation directe des moustiques ou direct-feeding.

Ces résultats nous permettent de dire que les gamétocytes retrouvés chez les porteurs après traitement aux combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine sont susceptibles d'infecter les moustiques tout comme les gamétocytes avant traitement. Ainsi l'impact de ces médicaments antipaludiques sur la phase précoce de la sporogonie reste à démontrer.

RECOMMENDATIONS

7. RECOMMANDATIONS

A la lumière de nos résultats les recommandations suivantes s'imposent :

- une nécessité d'étudier la transmission entomologique avec une méthodologie plus adaptée pour apprécier le niveau de la transmission afin d'éviter une extrapolation de résultats non superposables.
- une continuation de l'étude avec un effort particulier pour la mise en évidence et l'identification des mécanismes par lesquels ces antipaludiques bloquent le développement du parasite chez *An. gambiae* s.l et une méthodologie plus appropriée comparant chez un même sujet j₀ (avant traitement) et j₇ (après traitement) le potentiel infectieux.
- faire une comparaison de l'élevage sur terrain par rapport au laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

Références Bibliographiques

1. Abdoulaye M Touré. Etude du potentiel infectieux des populations humaines et mécanismes naturels de résistance d'*Anophèles gambiae s.l* au développement de *Plasmodium falciparum* dans le village de Bancoumana. D.E.A, *Entomologie et Parasitologie médicale*, 1996.
2. Amadou Hadiza K. Soumaila. (2004). Etude de la transmission naturelle des plasmodies humaines par les membres d'*Anophèles gambiae s.l* dans une zone soudanienne du Mali : Bancoumana, préfecture de Kati.
3. Anonyme, O.M.S (1994). Grandes lignes du plan d'action de l'O.M.S pour la lutte contre le paludisme 1993-2000. Conférence ministérielle sur le paludisme, Amsterdam, 27 octobre 1992.
4. Archives Nationales: ID-128 (Fonds Anciens). Notice Geographique-Historique et Statistique poste de Sikasso.
5. Ashida M and Brey PT – Recent advances in research on the insect prophenoloxidase cascade. Molecular mechanisms of immune Responses in insects. Chap –man and hall, London, 1998, pp135-172
6. Beier J.C et al. 6 Août 1987: Blood meal identification by ELISA, tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya.
7. Beier J.C et al. 3 Juillet (1989). Malaria sporozoite detection by dissection and ELISA to assess infectivity of afro tropical *Anopheles* (Diptera: Culicidae).
8. Bert. Mulder; T. Tchuinkam, V. Robert; J.P Verhave; P. Carnavale; H.E.T; Meuwissen; M. Cot; K. Dechering; H. Stoffels. Experimental infections of *Anopheles gambiae* with *Plasmodium falciparum* of naturally infected gametocyte carriers in Cameroon: factors influencing the infectivity to mosquitoes. *Trop. Med. Parasitol.* 44 (1993) 271-276.
9. Buckling A, and Read A – The effect of chloroquine treatment on the infectivity of *Plasmodium chabaudi* gametocytes. *Int J, Parasitology*, 1999, 619-625
10. CARTER R et GRAVES PM-Gametocytes. In Wernsdorfer WH et Mc Gregor I (Eds.), *Malaria. Principles and practice of malariology*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1988, vol 1, pp. 1-59.

11. C Boudin, and V. Robert- Plasmodium falciparum : epidemiometrie de la transmission homme-moustique et de l'infection chez le vecteur. Manuscrits n°2454b « Entomologie médicale ». Reçu le 8 juillet 2002. Accepté le 16 mai 2003
12. Coulibaly A., (1985) : Etude des variations saisonnières des fréquences des membres du complexe *Anophèles gambiae* à Banambani (cercle de Kati) et à Selinkenyi (cercle de yanfolila)-Mali. Thèse de Doctorat-ISFRA-Bamako.
13. Coulibaly M., (1999) : Comparaison de deux méthodes d'infection expérimentale des moustiques comme moyens d'évaluation des vaccins de blocage de la transmission du paludisme à Bancoumana. Thèse de Pharmacie, Mali
14. Cycle évolutif du Plasmodium (encyclopédie medico-chirurgicale Tome 48-507-A-10)
15. Dao A., (2005) : Etude comparative des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme dans différents villages de la préfecture de Kati en zone de Savane Soudanienne au Mali.
16. DAY KP, HAYWARD RE et DYER M-The biology of *Plasmodium falciparum* transmission stages. Parasitology, 1998, **116**, suppl; S95-S109.
17. Détinova T.S: Age-grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. Monogr Ser World Health Organ. 1962; 47:13-191.
18. Djimé A communication personnel : ABSTRACT, ASTMH 2004.
19. Djimé A, Doumbo O K, Steketee RW, and Plowe CV. Application of a molecular marker for surveillance of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria. Lancet 2001; 358: 890-1.
20. D. Mazier 1991.
Cycle et biologie des Plasmodiums (dans Médecine tropicale dirigée par le professeur Marc Gentilini, Coordination : Martin Danis et Jean Mouchet)
21. Graves PM, Carter R, and Mc Neill KM- Gametocyte production in cloned lines of *Plasmodium falciparum*. Am J Trop Med Hyg, 1984, 1045-1050.

22. Guérin J.P, Olliaro P, Nosten O, Druilhe P, Laxminarayan R et al
Malaria : current status of contrôle, diagnosis, treatment, and a proposed
agenda for research and development. Lancet Inf Dis, 2002, 2,564-573.
23. JANSE CJ, BOORSMA EG, RAMESAR J, VAN VIANEN P, VAN
DERMEER R et al; *Plasmodium berghei*: gametocyte production, DNA
content, and chromosome-size polymorphisms during asexual
multiplication in vitro. Exp Parasitol, 1989, **68**, 274-282.
24. Koita O. Epidémiologie du paludisme le long de la route trans-
saharienne du Mali. Thèse de pharmacie 1988, Bamako, Mali.
25. Koumaré S., (2004). Traitement antimalarique et potentiel infectieux
de *Plasmodium falciparum* pour *An gambiae s.l* à Bancoumana.
26. Maïga H.M. (1985) : Etude des variations saisonnières des fréquences
des membres du complexe *Anopheles gambiae* à Douna (cercle de Bla) et
à Moribabougou (cercle de Kati) Mali. Thèse de 3eme cycle, ISFRA.
27. PNLP, 2004: Politique nationale de lutte contre le paludisme
deuxième révision, (Juillet 2003-Juin 2004).
28. Puta C and Manyando C. Enhanced gametocyte production in
Fansidar-treated *Plasmodium falciparum* malaria patients: implications
for-malaria transmission control programmes. Trop Med in Health 1997;
2: 227-9.
29. READ AF, NARARA A, NEE S, KEYMER AE et DAY KP- Gametocyte
sex ratios as indirect measures of out crossing rates in malaria.
Parasitology, 1992, **104**,387-395.
30. ROBERT V, READ A, ESSONG J, TCHUINKAM T, MULDER B et al.-
Effect of gametocyte sex ratio on infectivity of *Plasmodium falciparum* to
Anopheles gambiae. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1996, **90**,621-624.
- 31.ROBERT V, SOKHNA C, ARIEY F et TRAPE JF -Sex-ratio of
Plasmodium falciparum gametocytes in inhabitants of Dielmo, Senegal.
Parasitology, 2003, in press.
32. Sangaré D., (1996): Etude de la transmission du paludisme à
Donéguéougou (arrondissement central de Kati). Mémoire de D.E.A
ISFRA-Bamako.

33. Sangaré D., (2000) : Dynamique des populations d'*Anophèles gambiae s.l.*, d'*An.funestus* et de *Plasmodium falciparum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguéougou (arrondissement central de Kati). Thèse de Doctorat -ISFRA-Bamako.
34. Seydou Diarra ; Moussa Konaré : Recensement MRTC Bougoula 2005.
35. SILVESTRINI F, ALANO P ET WILIAMS JL- Commitment to the production of male and female gametocytes in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Parasitology, 2000, **121**, 465-471.
36. Sinden RE –Gametocytes and sexual development. In: Sherman IW, Malaria: parasite, biology, pathogenesis, and protection. American society for microbiology Press, Washington DC, 1998, pp 25-48.
37. SMITH TG, LOURENCO P, CARTER R, WALLIKER D et RANFORD-CARTWRIGHT LC- Commitment to sexual differentiation in the human malaria parasite, *Plasmodium falciparum*. Parasitology, 2000, **121**, 127-133.
38. Sokhna CS, Trape JF, and Robert V-Gametocytes in Senegalese children with uncomplicated falciparum malaria treated with chloroquine, amodiaquine or sulfadoxine plus pyriméthamine. Parasite, 2001, 8, 243-250.
39. Target G, Drakeley C, Jawara M, Von Seidlein L, Cole-Man R et al- Artésunate reduces but does not prevent post-treatment transmission of plasmodium falciparum to *Anopheles gambiae*. J Inf Dis, 2001, 183, 1254-1259. Von Seidlein L, Drakeley C, Greenwood B, Walraven G, and Target G-Risk factors for gametocyte carriage in Gambia children. Am J Trop Med Hyg, 2001, 65,523-527.
40. Taylor LH, and Read AF – Why so few transmission stages? Productive restraint by malaria parasites. Parasitol today, 1997, 13, 135-140.
41. Thérèse Duriez, Lucien Dujardin, Daniel Afchain ; Paludisme (Laboratoire de parasitologie faculté de Pharmacie Lille), dernière mise à jour : 2/07/02 ; 12 :55 :54.
42. Traoré. S., (1993): Epidémiologie du paludisme en zone de savane sud-soudanienne, au Mali (village de Pimperena dans la région de Sikasso).

43. Trape JF, Rogier C, Konaté L, Diagne N, Bouganali H, et al. The Dielmo project: a longitudinal study of natural malaria infection and mechanisms of protective immunity in a community living in a holoendemic area of Senegal. *Am J Trop Med Hyg*, 1994, 51, 123-137
44. Touré Y.T. (1979) : Bio-écologie des *Anopheles* (Diptera, Culicidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali (village de Banambani). Incidence sur la transmission du palu et de la filariose de Bancroft. Thèse de 3eme cycle, Centre Pédagogique Supérieur, Bamako Mali.
45. Touré Y.T ; Petrarca.V et Coluzzi M. (1983) : Répartition géographique et polymorphisme chromosomique des membres du complexe *Anopheles gambiae* au Mali. Communication orale 2eme conférence intern. Paludisme et Babesioses. Annecy, France. Edition Mérieux, p-198.
46. Touré Y.T , (1985). Génétique, écologie, et capacité vectorielle des membres du complexe *gambiae* s.l au Mali. Thèse es science Aix-marseille III, France.
47. Touré Y.T ; Petrarca.V ; Traoré S.F ; Coulibaly A ; Maïga H.M ; Sankaré O ; Sow M ; Di Deco M.A et Coluzzi M. (1994) : Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae* s.s. in Mali, west Africa. *Genetica* 94:213-223.
48. Traoré S.F. (1989) : Etude du comportement et de la contribution à la transmission du palu des membres du complexe *Anophèles gambiae* à Banambani. Thèse de Doctorat ISFRA-Bamako.
49. Von Seidlein L, Drakeley C, Greenwood B, Walraven G, and Targets G-Risk factors for gametocyte carriage in Gambia children. *Am J Trop Med Hyg*, 2001, 65,523-527.
50. White N. Delaying antimalarial drug resistance with combination therapy. *Parasitologia* 1999, 41:301-8.
51. WHITE Nick : TDR /OMS, Nov. 2000, Avr 2001et Juin 2002.52. White NJ and Olliaro PL. Strategies for prevention of antimalarial drug resistance: rationale for combination therapy for malaria. *Parasitology Today*, 1996, 12:399-401.
52. White NJ and Olliaro PL. Strategies for prevention of antimalarial drug resistance: rationale for combination therapy for malaria. *Parasitology Today*, 1996, 12:399-401.
53. WHO, 2003: The African Malaria report 2003.

ANNEXES

ANNEXE 1.1 : Détection des antigènes sporozoïtiques chez les moustiques

Mode opératoire :

- Mettre individuellement les têtes-thorax dans les tubes Eppendorf de 1,5ml ;
- porter les références (lieu, date, l'espèce capturée et méthode de capture) ;
- ajouter 50ul de BBNP40 (Blocking Buffer Nonidet P40) dans chaque tube ;
- écraser mécaniquement à l'aide de petits pilons et ajouter 200 µl de BB (Blocking Buffer) pour obtenir un volume de 250µl dans les tubes ;
- établir les fiches correspondant aux échantillons ;
- déposer 50ul de l'anticorps monoclonal non marqué dans chaque puits d'une plaque de microtrituration et laisser incuber pendant une demi-heure à la température ambiante ;
- aspirer l'anticorps non marqué, mettre 200 µl de BB dans chaque puits et laisser incuber pendant 1 heure ;
- aspirer le BB, puis mettre 50 µl de chaque broyat de moustiques dans les puits correspondants ;
- mettre en même temps les contrôles positifs et négatifs dans les puits correspondants et laisser incuber pendant 2 heures ;
- aspirer les broyats et laver les plaques deux fois avec du PBS-Tween (solution de lavage) ;
- déposer 50 µl de l'anticorps monoclonal marqué à la peroxydase dans chaque puits et laisser incuber pendant 1 heure ;
- aspirer l'anticorps monoclonal marqué et laver trois fois les plaques avec du PBS-tween ;
- ajouter 100 µl de substrat révélateur (substrat ABTS) par puits ;
- faire la lecture visuellement après 30 mn : les puits de la plaque colorés en vert (couleur du contrôle positif) correspondent aux moustiques positifs.

Préparation des solutions

-Solution BBNP40 :

Faire le mélange de 5ml de BB plus 25ul de NP40 et avec le vortex agiter pendant 15 mn.

-Solution de lavage (PBS Tween):

Dissoudre 9,65g de PBS dans 1000ml d'eau distillée et ajouter 500 µl de Tween 20.

-Solution d'anticorps monoclonal non marqué :

Prendre pour une plaque 5ml de PBS et ajouter 20ul d'anticorps.

-Solution d'anticorps monoclonal marqué :

Prendre pour une plaque 5ml de BB et ajouter 10ul d'anticorps.

-Solution révélatrice :

Pour une plaque prendre 5ml de l' ABTS peroxydase substrate et 5ml de peroxydase solution B les mélanger bien avec le vortex.

-Solution de BB (Blocking Buffer):

Pour 1 volume de 500 ml, il faut :
ml, il faut :

Pour 1 volume de 1000

Caséine (0,5 %)	2,5 g	5 g
NaOH (0,1N)	50ml	100ml
PBS (PH=7)	450ml	900ml
Thimersol	0,05g	0,1g
Phénol rouge	0,01g	0,02g

Prendre 100ml de NaOH à 0,1N, ajouter 5g de caséine et faire bouillir l'ensemble tout en agitant le mélange ;

Une fois en ébullition arrêter le chauffage et ajouter petit à petit 900 ml de PBS tout en agitant doucement;

Ajouter ensuite le Thimersol et le Phénol rouge puis laisser refroidir ;

Régler le PH à 7,4 en ajoutant du HCl.

ANNEXE 1.2 : Identification du repas de sang par la technique ELISA

Mode opératoire :

-mettre le sang avec 50 µl de PBS (Phosphatase Buffer Saline) dans les tubes Eppendorf,

- triturer l'ensemble jusqu'à obtenir une solution homogène,

- ajouter 200µl de PBS,

-établir les fiches correspondant aux échantillons,

-déposer 50 µl de solution de repas de sang dans les différents puits selon la fiche préétablie en respectant l'ordre,

-laisser incubé pendant trois heures,

-laver deux fois les plaques avec du PBS-TWEEN,

-déposer 50 µl du mélange : de la solution D et de la solution du conjugué double (peroxydase pour humain et phosphatase pour bovin) laisser incubé pendant une heure,

-laver trois les plaques avec du PBS-TWEEN, déposer 100 µl d'ABTS à la peroxydase et lire 30 minutes à l'œil nu :(la coloration verte signifie sang humain),

-laver encore trois la même plaque avec du PBS-TWEEN, mettre 100 µl de révélateur à la phosphatase par puits et lire après une heure de temps ou le lendemain : (la coloration jaune signifie sang de bovin).

Préparation des solutions ;

-Solution « D » :

Ajouter 25 µl de TWEEN 20 à 100ml de BB (Blocking Buffer).

-Conjugué double :

Prendre pour une plaque de 96 puits 5ml de solution « D », ajouter 2,5 ml de peroxydase et de 20 µl de phosphatase, vortexer pendant quelques minutes.

-Révélateur à la peroxydase :

Pour une plaque, prendre 5ml de la solution de peroxydase « A » et 5ml de solution de peroxydase « B ».

-Révélateur à la phosphatase :

Prendre pour une plaque prendre 8ml d'eau distillée, ajouter 2ml de « phosphatase substrate » et 2 comprimés de p-nitrophenyl phosphate dissoudre complètement les comprimés en agitant doucement la solution.

ANNEXES 2 : Paramètres mesurés

Fréquence des espèces vectrices :

Elle exprime la composition de la population en terme de fréquence des espèces rencontrées. Elle est égale au nombre total de l'espèce donnée divisé par le nombre total (n) de moustiques vecteurs capturés.

Densité moyenne d'anophèle par case

Elle exprime le nombre moyen d'anophèles d'une espèce donnée par case. La densité est calculée en divisant le nombre d'anophèles capturés par le nombre de cases prospectées pour chaque espèce.

Agressivité (ma)

Ce paramètre correspond au nombre moyen de piqûres d'une espèce donnée, reçues par unité de temps. L'agressivité se calcule de deux manières :
-en capture de jour (spray catch) : pour une espèce donnée, l'agressivité est égale au nombre total d'anophèles femelles ayant piquées la veille (gorgée et semi gravide) divisé par le nombre de dormeurs.

L'agressivité mensuelle est obtenue en multipliant l'agressivité par 30.

-en capture de nuit : l'agressivité est égale au nombre total d'anophèles femelles capturées divisé par le nombre de captureurs.

Taux de parité

C'est la proportion de femelles pares (ayant pondu au moins une fois) sur l'ensemble des femelles disséquées (pares + nullipares). Ce paramètre est déterminé à partir des femelles à jeun collectées lors des captures de nuit.

Taux d'infection

Il correspond au pourcentage d'anophèles d'une espèce donnée porteurs de sporozoïtes dans leurs glandes salivaires : indice sporozoïtique (IS). Ce paramètre peut être estimé à partir de l'indice d'antigène circum sporozoïtique (IAS) dans la portion tête thorax. En pratique, le taux (IAS) correspond au nombre d'anophèles d'une espèce donnée positifs au test ELISA, divisé par le nombre d'anophèles de l'espèce donnée traités.

Taux d'anthropophilie

C'est la proportion de femelles pour une espèce d'anophèle donnée, ayant pris leur repas de sang sur l'homme. Ce paramètre est égal au nombre d'anophèles porteurs de sang d'origine humaine, divisé par le total testés (humain, bovins etc.) et le tout multiplié 100.

Taux d'inoculation entomologique (h)

Il représente le nombre de piqûres infectantes reçues par l'homme et par unité de temps:

$h = ma.IS$ c'est la formule de Marc Donald (1950) ; où ma est l'agressivité et l' $I.S$ correspond à l'indice sporozoïtique ou IAS lorsque le taux d'infection est déterminé par ELISA. On peut estimer le taux d'inoculation (h) par espèce et par période.

Fiche signalétique

Auteur: Cheick Oumar Koné

Titre : Etude de la transmission et potentiel infectieux des porteurs de gamétocytes avant et après traitement du palustre simple avec les CTAs à Bougoula Hameau (Région de Sikasso).

Année de soutenance : 2007

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS

Secteur d'intérêt : Entomologie et parasitologie médicales

RESUME

De juillet 2005 à Janvier 2007 une étude s'est déroulée à Bougoula Hameau situé à 5 Kms à Est de la ville de Sikasso sur la transmission du paludisme et sur le potentiel infectieux des porteurs de gamétocytes avant et après traitement avec les CTAs.

Le spray catch et la capture sur appât humain ont été utilisées pour collecter les moustiques. La méthode ELISA a été utilisée pour établir le taux d'antigène sporozoïtique.

Les vecteurs rencontrés étaient *An.gambiae s.l* (99,84%) et *An.funestus* (0,16%). Plus d'une piqûre infectante par homme et par mois a été observé en Octobre et moins d'une piqûre infectante en Mars.

D'autre part les moustiques ont été élevés dans les conditions semi naturelle à Bougoula. Les F1 ont été utilisés pour le direct feeding. La technique classique de microscopie utilisée pour l'étude de la sporogonie a permis de déterminer les taux d'infection en oocyste.

Il y avait une différence statistiquement significative quant aux taux d'infection des moustiques entre les groupes que ce soit avant ($p= 0,000002$) ou après traitement ($p<10^{-6}$). Nous avons aussi observé une différence statistiquement significative entre les régimes de traitement d'une part quant à l'infectivité des moustiques gorgés sur les porteurs de gamétocytes ($p<10^{-6}$) et d'autre part dans la répartition de la charge oocystique en fonction du groupe d'âge ($p<10^{-6}$).

Ainsi, les renseignements que ces résultats nous fournissent permettront de développer des hypothèses et des questions de recherche à approfondir afin de mieux comprendre l'interaction homme-vecteur-parasite, et de mieux se prononcer sur la transmission du paludisme et sur l'infectivité des gamétocytes retrouvés avant et après traitement avec les CTAs.

Mots clés : transmission, paludisme, potentiel infectieux, porteurs de gamétocytes, *An.gambiae s.l*, CTAs.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

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

-D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de 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 de sa dignité humaine.

-En aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les 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.

Je le jure!