

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (M.E.S.R.S)

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO - STOMATOLOGIE
" F.M.P.O.S "



Année universitaire : 2011- 2012

Thèse N °/M

TITRE :

ETUDE DE L'INFECTIVITE DES GAMETOCYTES DE
PLASMODIUM FALCIPARUM CHEZ LA FORME
MOLECULAIRE *M D'ANOPHELES GAMBIAE S.S* EN
ZONE D'ENDEMIIE PALUSTRE DE
NANGUILABOUGOU

THESE :

Présentée et soutenue publiquement le 30/01/2012 à 12H00 devant le jury de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Par Modibo MARIKO

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

(Diplôme d'Etat)

JURY :

Président : Professeur Agrégé Amagana DOLO

Membres : Docteur Adama DAO

Docteur Ibrahima BABER

Co-directeur : Professeur Djibril SANGARE

Directeur de thèse : Professeur Mouctar DIALLO

LISTE ACADEMIQUE

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2011-2012**

PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie - Traumatologie - Secourisme
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histo-embryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boukassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

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

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale, Chef de D.E.R
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique

Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sekou SIDIBE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Tieman COULIBALY	Orthopédie-Traumatologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOÏBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale
Mr Youssof COULIBALY	Anesthésie-Réanimation
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Mohamed KEITA	ORL
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie/ Traumatologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie – Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
MrTiémoko D. COULIBALY	Odontologie
Mme Djenèba DOUMBIA	Anesthésie / Réanimation
Mr Bouraïma MAIGA	Gynéco- Obstétrique
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/ Obstétrique
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie- Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Lamine TRAORE	Ophthalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Yousouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djiibo Mahamane DIANGO	Anesthésie - Réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie
Mr Mamadou DIARRA	Ophthalmologie
Mr Boubacary GUINDO	ORL
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA	Chirurgie Générale
Mr Birama TOGOLA	Chirurgie Générale
Mr Adama Konoba KOITA	Chirurgie Générale
Mr Adégné TOGO	Chirurgie Générale
Mr Lassana KANTE	Chirurgie Générale
Mr Mamby KEITA	Chirurgie Pédiatrique
Mr Hamady TRAORE	Odonto-Stomatologie
Mme Fatoumata SYLLA	Ophthalmologie
Mr Drissa KANAKOMO	Neurochirurgie
Mme Kadiatou SANGARE	ORL
Mr Nouhoum DIANI	Anesthésie-Réanimation

Mr Aladji Seïdou DEMBELE	Anesthésie-Réanimation
Mr Ibrahima TEGUETE	Gynéco-Obstétrique
Mr Youssef TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Lamine Mamadou DIAKITE	Urologie
Mme Fadima Kouréïssy TALL	Anesthésie-Réanimation
Mr Mohamed KEITA	Anesthésie-Réanimation
Mr Broulaye Massaoulé SAMAKE	Anesthésie-Réanimation
Mr Yacaria COULIBALY	Chirurgie Pédiatrique
Mr Seydou TOGO	Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire
Mr Tioukany THERA	Gynécologie
Mr Oumar DIALLO	Neurochirurgie
Mr Boubacar BA	Odonto-Stomatologie
Mme Aïssatou SIMAGA	Ophtalmologie
Mr Seydou BAKAYOKO	Ophtalmologie
Mr Sidi Mohamed COULIBALY	Ophtalmologie
Mr Adama GUINDO	Ophtalmologie
Mme Fatimata KONANDJI	Ophtalmologie
Mr Hamidou Baba SACKO	ORL
Mr Siaka SOUMAORO	ORL
Mr Honoré Jean Gabriel BERTHE	Urologie
Mr Drissa TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Bakary Tientigui DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Koniba KEITA	Chirurgie Générale
Mr Sidiki KEITA	Chirurgie Générale
Mr Soumaïla KEITA	Chirurgie Générale
Mr Alassane TRAORE	Chirurgie Générale

4. ASSISTANT

Mr Drissa TRAORE	Anatomie
------------------	----------

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie- Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahamane S. MAÏGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Sékou F. TRAORE	Entomologie médicale

Mr Ibrahim I. MAÏGA

Bactériologie - Virologie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE

Histologie-Embryologie

Mr Flabou BOUGOUDOGO

Bactériologie- Virologie

Mr Amagana DOLO

Parasitologie **Chef de D.E.R**

Mr Mahamadou CISSE

Biologie

Mr Abdoulaye DABO

Malacologie- Biologie Animale

Mr Mahamadou A THERA

Parasitologie - Mycologie

Mr Moussa Issa DIARRA

Biophysique

Mr Mouctar DIALLO

Biologie- Parasitologie

Mr Djibril SANGARE

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Boubacar TRAORE

Parasitologie- Mycologie

Mr Mounirou Baby

Hématologie

Mr Guimogo DOLO

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Kaourou DOUCOURE

Biologie

Mr Lassana DOUMBIA

Chimie Organique

Mr Abdoulaye TOURE

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Cheick Bougadari TRAORE

Anatomie-Pathologie

Mr Souleymane DIALLO

Bactériologie- Virologie

Mr Bouréma KOURIBA

Immunologie

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DIAKITE

Immunologie-Génétique

Mr Bakarou KAMATE

Anatomie- Pathologie

Mr Bakary MAIGA

Immunologie

Mr Bokary Y SAMAKE

Biochimie

4. ASSISTANTS

Mr Mamadou BA

Biologie, Parasitologie Entomologie médicale

Mr Moussa FANE

Parasitologie Entomologie

Mr Blaise DACKOUO

Chimie Analytique

Mr Aldjouma GUINDO

Hématologie

Mr Boubacar Ali TOURE

Hématologie

Mr Issa KONATE

Chimie-Organique

Mr Moussa KONE

Chimie-Organique

Mr Hama Abdoulaye DIALLO

Immunologie

Mr Seydina Aboubacar Samba DIAKITE

Immunologie

Mr Mamadou MAIGA

Bactériologie

Mr Samba Adama SANGARE

Bactériologie

Mr Oumar GUINDO

Biochimie

Mr Seydou Sassou COULIBALY

Biochimie

Mr Harouna BAMBA

Anatomie-Pathologie

Mr Sidi Boula SISSOKO	Histologie-Embryologie
Mr Bréhima DIAKITE	Génétique
Mr Yaya KASSOGUE	Génétique
Mme Safiatou NIARE	Parasitologie
Mr Abdoulaye KONE	Parasitologie
Mr Bamodi SIMAGA	Physiologie
Mr Klétigui Camsir DEMBELE	Biochimie Clinique
Mr Yaya GOITA	Biochimie Clinique

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Mahamane MAÏGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie-Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubakar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie, Chef de D.E.R.

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Daouda K MINTA	Maladies Infectieuses
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A. CISSE	Rhumatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépto-gastro-entérologie

Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mme KAYA Assétou SOUCKO	Médecine interne
Mr Mahamadou GUINDO	Radiologie
Mr Ousmane FAYE	Dermatologie
Mr Yacouba TOLOBA	Pneumo-phtisiologie
Mme Fatoumata DICKO	Pédiatrie
Mr Boubacar DIALLO	Médecine Interne
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA	Neurologie
Mr Modibo SISSOKO	Psychiatrie
Mr Ilo Bella DIALL	Cardiologie
Mr Mahamadou DIALLO	Radiologie
Mr Adama Aguisa DICKO	Dermatologie
Mr Abdoul Aziz DIAKITE	Pédiatrie
Mr Boubacar dit Fassara SISSOKO	Pneumologie
Mr Salia COULIBALY	Radiologie
Mr Ichaka MENTA	Cardiologie
Mr Souleymane COULIBALY	Cardiologie
Mr Japhet Pobanou THERA	Médecine Légale/Ophthalmologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie, Chef de D.E.R

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO	Matières médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Bénédict Yaranga KOUMARE	Chimie analytique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie
Mr Saibou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Abdoulaye DJIMDE	Microbiologie-Immunologie
Mr Sékou BAH	Pharmacologie
Mr Loséni BENGALY	Pharmacie Hospitalière

4. ASSISTANTS

Mr Aboubacar Alassane OUMAR	Pharmacologie Clinique
Mr Sanou Khô COULIBALY	Toxicologie
Mr Tidiane DIALLO	Toxicologie
Mr Bourama TRAORE	Législation
Mr Issa COULIBALY	Gestion
Mr Mahamadou TANDIA	Chimie Analytique
Mr Madani MARIKO	Chimie Analytique
Mr Mody CISSE	Chimie Thérapeutique
Mr Ousmane DEMBELE	Chimie Thérapeutique
Mr Hamma Boubacar MAIGA	Galénique
Mr Bacary Moussa CISSE	Galénique
Mr Adama DENOUE	Pharmacognosie
Mr Mahamane HAIDARA	Pharmacognosie
Mr Hamadoun Abba TOURE	Bromatologie
Mr Balla Fatoma COULIBALY	Pharmacie Hospitalière

D.E.R. SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Mamadou Sounkalo TRAORE	Santé Publique, Chef de D.E.R
Mr Jean TESTA	Santé publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Samba DIOP	Anthropologie Médicale
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Adama DIAWARA	Santé Publique

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Hammadoun Aly SANGHO	Santé Publique
Mr Akory AG IKNANE	Santé Publique
Mr Ousmane LY	Santé Publique
Mr Cheick Oumar BAGAYOKO	Informatique Médicale
Mme Fanta SANGHO	Santé Communautaire

4. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO	Bio statistique
Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale
Mr Abdramane ANNE	Bibliothéconomie-Bibliographie

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS

VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Zoubéïrou MAIGA	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Lassine SIDIBE	Chimie-Organique
Mr Cheick O DIAWARA	Bibliographie
Mr Ousmane MAGASSY	Bio statistique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr Amadou Papa DIOP	Biochimie
Pr Lamine GAYE	Physiologie
Pr Pascal BONNABRY	Pharmacie Hospitalière

AVANT PROPOS

Ce travail est le fruit d'un programme de recherche intégré entre la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) de l'Université de Bamako, le MRTC/DEAP et le Consortium de MALVECBLOK dirigé par le **Pr. Elena Levashina**.

Consortium de MALVECBLOK

RUNMC

CNRS

**Imperial
College**

ICIPE

UNIROMA

MRTC

**IRD
OCEAC**

Institutions impliquées dans le consortium (MALVECBLOK)

DEDICACES

DEDICACES

A ALLAH, Le Tout Puissant, le Très miséricordieux, toutes les louanges T'appartiennent. Tu m'as assisté tout au long de ma vie, je Te prie seigneur d'accepter ce modeste travail en témoignage de ma reconnaissance et de ma foi.

A mon père « Soungalo Mariko » :

Cher papa, les mots me manquent ici pour t'exprimer toute ma gratitude. Si j'en suis là aujourd'hui c'est bien grâce à toi.. Tu nous as appris le sens de l'honneur, de la dignité, de la générosité et très tôt tu nous as inculqué le culte de l'excellence et du respect des valeurs morales. Je ne vais jamais oublier les valeurs de ton éducation à travers ta devise : « *seul ce que tu gagnes par ta sueur est le tien* ». Ce travail est un modeste témoignage de tous les sacrifices que tu as consentis. Puisse ce travail m'offrir l'occasion de me rendre digne de tes conseils, de ton estime et de ta confiance. Je voudrais avoir un jour des enfants qui seront aussi fier de moi que je le suis de toi. Puisse Dieu te garder longtemps encore parmi nous pour goûter au fruit de ton labeur.

A ma mère « Yènè Samaké » :

Maman chérie, je ne trouve pas de mots qui pourront me satisfaire pour t'exprimer mes sentiments. Les mots ne me suffiront jamais pour te qualifier et exprimer ce que tu représentes et continuera de représenter pour moi. Maman, je ne saurais jamais assez te remercier pour tout l'amour que tu me donnes et pour tous les sacrifices que tu as consentis pour mes frères et moi. L'éducation que j'ai reçue de toi m'est utile chaque jour de ma vie, et de ce fait je te dois tout dans ma vie. Mère, ce modeste travail est le tien et je souhaite qu'ALLAH nous accorde une longue vie et nous permette à nous tes enfants de te rendre toujours plus fier de nous.

A mes frères et à ma sœur « Bourama, Moussa et Assitan Dite Batoma » :

Vous n'avez pas manqué de m'entourer de la chaleur familiale nécessaire durant ces longues années d'étude. Restons unis aucun mot n'exprimera assez ma reconnaissance. Ce modeste ouvrage est le votre. Que le tout puissant renforce et préserve notre affection fraternelle.

REMERCIEMENTS

A Dieu le tout Puissant, le Miséricordieux, le Maître des destins, pour m'avoir guidé et surtout assisté tout au long de mes études jusqu'à l'aboutissement de ce document. Qu'il affermit d'avantage mes pas pour le reste de mon existence.

Amen !!!

Je remercie très sincèrement toutes les personnes de bonne volonté qui de loin ou de près ont contribué tant soit peu, à la réalisation de ce travail. Cependant je ne saurai jamais énumérer de façon exhaustive les parents, amis, collaborateurs et maîtres qui m'ont apporté leurs soutiens moraux, matériels, et scientifiques tout au long de cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude !

Je remercie très chaleureusement mes deux Directeurs de thèse, **Pr Mouctar Diallo** et **Pr Djibril Sangaré** pour l'opportunité qu'ils m'ont donnée d'accomplir ce travail autour d'un thème, qui quoique complexe est passionnant.

Au Projet MALVECBLOK/CNRS/MRTC : pour l'appui financier de ce travail.

Au Pr Elena Levashina, pour votre aide à la réalisation de ce travail et les conseils que vous nous avez prodigués lors de votre séjour au Mali. Veuillez accepter ce travail comme le fruit de votre apport inestimable tout au long de sa réalisation.

Mes remerciements vont à toute l'équipe du MRTC/ DEAP/ FMPOS et notamment :

A mes maîtres :

Pr Sékou F Traoré, Pr Amagana Dolo, Dr Richard Sakai, Dr Abdoulaye Touré, Dr Guimogo Dolo, Dr Seydou Doumbia, Dr Bakary Maiga, Dr Mamadou B Coulibaly, Dr Ibrahim Baber, Mr Alpha Seydou Yaro, Dr Adama Dao, Dr Nafomon Sogoba, Mme Oumou Niaré

Chers maîtres les mots me semblent insuffisants pour exprimer l'estime que j'éprouve à votre égard.

Veuillez trouver en ce travail l'expression de ma profonde gratitude

J'ai trouvé dans ce laboratoire une ambiance particulièrement favorable pour mener à bien ce travail, et je remercie Boubacar Coulibaly, Moussa Diallo, Adama Sacko et Abdramane Fofana; qui m'ont accueilli et appris les techniques d'élevage des moustiques,

d'infestation expérimentale et de biologie moléculaire. Soyez rassurer de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier vivement Dr Yaya Kassogué et Dr Madjou Sacko qui malgré leurs occupations au laboratoire, m'ont épaulé, encouragé et soutenu dans l'élaboration de cette thèse.

Ma modeste connaissance du traitement des données et des analyses statistiques est attribuable essentiellement aux efforts de Dr Sibri Samaké. Il m'a ouvert sa bibliothèque de statistique, allumé à plusieurs reprises son ordinateur et toujours travaillé à apporter des réponses aux questions que je lui posais.

A mes potes du laboratoire : Lakamy Sylla, Cheick Oumar Camara et Interne Alou G Traoré, qui m'ont toujours soutenu dans la réalisation de ce travail. Chers amis mille fois Merci !

A mes aînés , mes collègues thésards et techniciens du MRTC : Dr Modibo B Traoré, Dr Yaya Coulibaly, Dr Mamadou B. Touré, Dr Alpha Adamou, Dr Benoît Dembélé, Dr Boubacar Guindo, Dr Bréhima Diallo, Dr Sekou Koumaré, Dr Housseyni Dolo, Dr Cheick O. Koné, Dr Souleymane Diarra, Dr Brehima Diakité, Dr Yaya Kassogué, Dr Dramane Sanogo, Dr Amadou Guindo, Dr Massiriba Koné, Dr Chaka konaté, Dr Mohamed Traoré, Dr Amadou Sekou Traoré, Dr Arouna Soumaré, Bilkissou Yougoure, Ladjji Camara, Gnagnan Traoré, Abdallah Diallo, Abdramane Fofana, Lamine Soumaoro, Michel Coulibaly, Moussa Sissoko, Moussa Keita et Cheick Coulibaly.

Ce travail est le fruit de vos efforts conjugués. Vos conseils et surtout votre abnégation ont permis la réalisation de ce document.

Je saisis cette opportunité pour vous faire part de mon estime et de ma reconnaissance. Trouvez ici mes sincères remerciements.

Aux informaticiens du laboratoire: Sidy Soumaré, Mady Diarra, Amadou Diallo, Issa et Mme Soumaré Salimata Traoré.

Merci pour votre constante disponibilité.

Aux chauffeurs qui m'ont accompagné dans ce travail

Mamadou Diallo, Dramane Dembélé, Mamadou Keita, Moumouni Diallo, Fako Diarra, Moro Diakité, Mamadou Diarra, Hama Ongoïba et Samba Sidibé. Merci pour votre disponibilité et votre courtoisie.

Aux manœuvres du laboratoire du MRTC/DEAP/FMPOS

Bemba Diarra, Noumou Mory Coulibaly, Abdoulaye Coulibaly, Madoublé et Tolo.

A mes oncles et à mes tantes

Vous m'avez beaucoup soutenu à travers vos conseils, vos encouragements et vos bénédictions. Trouvez à travers ce modeste travail, l'expression de ma profonde reconnaissance et le témoignage de mon profond respect.

Que ce travail soit pour vous un motif de réconfort.

A mon tonton « Adou Diallo » et sa famille à Sikasso

Vous avez été plus qu'un père pour moi, grâce à vous et au bon Dieu, j'ai pu franchir le cap du CEP (Certificat d'Etude Primaire) et du DEF (Diplôme d'Etude Fondamentale) sans grande difficulté. J'ai admiré en vous un chef de famille responsable, soucieux de l'avenir de ses enfants. J'ai beaucoup bénéficié de vos conseils sans lesquels je n'aurais atteint ce niveau.

Que ce travail soit pour vous, l'expression de ma profonde gratitude et de ma sincère reconnaissance.

A mon tonton « Moussa Drabo » et sa famille au Point G

J'ai apprécié votre sens d'aider les autres et surtout votre souci de partage. Vous m'avez beaucoup soutenu à travers vos conseils, vos encouragements et vos bénédictions.

Trouvez à travers ce modeste travail, l'expression de ma profonde reconnaissance et le témoignage de mon profond respect.

Que le Miséricordieux vous récompense, car lui seul en est capable.

A mes amis d'enfance : Je garderai toujours en souvenir les moments que nous avons passés ensemble. Que Le Tout Puissant nous garde aussi longtemps ensemble et qu'il guide nos pas sur le droit chemin !

A mes promotionnaires et amis (es) : Dr Abdoul Karim Dembelé, Dr Amadi Guindo, Boubarcar Mallé Coulibaly, Nanzoun Diarra, Souleymane Diallo, Interne Aniéssa Kodio, Mariam Sidibé, Dr Issa Sy, Mamadou Togo, Mariam Sidibé, Mamadou Zanga Koné, Kissi, FUGO, Maïmouna Defo Diarra, Flagnouma Diallo, Abdoulaye Kéita, Giles Dakouo, Hadidiatou Bengaly, Abdoulaye Sissoko, Tiéllou Diall Dite Bouchap, Adama Diombana, Mohamed Sidibé, Amadou Sogodogo, Abdramane Doumbia Dite Tonton, Adama Bagayoko Dite Django, Mohamed Traoré, Amdiata Kanta, Hawa Traoré, Kadidiatou Ba et Fanta Traoré dite Fatim.

Vous avez toujours répondu à mes attentes. Je ne saurais vous remercier assez et j'implore le tout puissant qu'il exauce nos vœux de bonheurs et renforce d'avantage nos liens d'amitié.

A mon locateur « Mme Koné Adama Ballo » et famille au Point G, merci pour votre hospitalité.

Aux travailleurs de l'espace BUNGALO, notamment à Kansaye et Blaise.

A « Magnama Konaté » et sa famille à Sékoubougouni, pour leur bonté et leurs encouragements qui ont beaucoup contribué à ma réussite à l'université. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et de ma reconnaissance.

A tous les étudiants de la promotion **2004-2011** de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS).

A tous mes amis du campus et notamment mes amis de la chambre A11 : vous avez été pour moi des frères, des compagnons de lutte.

Vous ne m'avez jamais abandonné. Nous avons enduré ensemble la traversée des « océans » du supérieur. Je vous souhaite bonne chance dans la vie. Ce travail est le vôtre.

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

A tous mes formateurs Scolaires et Universitaires : depuis le premier cycle, le second cycle en passant par le Lycée Hammadoun Dicko de Sévaré (LHDS) jusqu'à la Faculté de Médecine de Pharmacie et Odonto-Stomatologie du Point G, pour la qualité de l'enseignement que nous avons reçue d'eux.

Aux populations de Nanguilabougou : pour leur pleine participation et leur générosité.

Toute ma reconnaissance sincère à l'encontre des **enfants** vivant à Nanguilabougou pour leur disponibilité à notre étude.

Aux trois guides : Soungalo CAMARA, Mamadou DOUMBIA dit (Madoufing), Bakary DOUMBIA dit (Bibi),

A la cuisinière : Nassira CAMARA dite (Sira).

A mes amis, qui sont très loin de la recherche scientifique mais très proches dans mon cœur.

Mes pensées vont également à tous ceux que je n'ai pas cités ici (qu'ils me pardonnent).

Mille fois merci !!!

§-§-§-§-§-§-§-§-§-§

Je remercie beaucoup **Jean Paul SARTE** pour son assertion dont je cite « *Tout homme est en situation : il a un passé, un présent, un avenir, des amis, des ennemies, des obstacles devant lui, des problèmes vitaux à résoudre. Il est donc plongé dans cet ensemble de conditions matérielles et historiques qui définit une époque donnée* ». Fin de citation.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et Président du jury

Professeur Agrégé Amagana DOLO

- Maître de conférences agrégé en parasitologie-mycologie à la FMPOS.
- Chercheur au MRTC.
- Chef de DER des Sciences Fondamentales à la FMPOS.

Cher maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Votre rigueur scientifique, votre amour pour le travail bien fait font de vous un maître exemplaire et témoigne aussi de l'importance que vous attachez à notre formation médicale. Vos nombreuses tâches ne vous ont pas empêché d'apporter votre contribution à ce modeste travail. Nous en sommes honorés et c'est l'occasion ici de vous dire infiniment merci et croyez en notre reconnaissance et notre grande admiration.

A notre maître et juge

Docteur Adama DAO

- Docteur en entomologie et parasitologie médicales,
- Chef de l'unité écologie moléculaire.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Vos qualités humaines et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.

A notre maître et juge

Docteur Ibrahima BABER

- PhD en Bioinformatique,
- Chercheur à l'Unité Epidémiologie/GIS/RS du MRTC.

Nous avons apprécié vos qualités scientifiques et pédagogiques tout au long de cette thèse. Votre rigueur et votre amour pour le travail bien accompli ainsi que votre sens critique ont fait de vous un homme apprécié de tous. Soyez rassurés de notre profond attachement et de notre entière confiance.

A notre maître et Co-directeur de thèse

Professeur Djibril SANGARE

- PhD en parasitologie entomologie médicale,
- PhD en entomologie moléculaire
- Chef de l'unité bioinformatique des vecteurs au MRTC.

Cher maître, vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document. Nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de ce travail. Votre sens élevé du travail bien fait, votre disponibilité constante et surtout votre patience font de vous un maître respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.

A notre maître et Directeur de thèse

Professeur Mouctar DIALLO

- PhD en parasitologie entomologie médicale,
- Responsable de l'Unité de Diagnostic Parasitaire au MRTC/FMPOS
- Chef de D.E.R Adjoint au D.E.R des Sciences Fondamentales de la FMPOS

Cher maître, nous vous remercions de la confiance que vous avez placée en nous proposant ce travail. Vos qualités humaines, scientifiques et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré. Nous sommes très fiers d'être parmi vos élèves. Soyez rassurés, cher maître de notre profonde gratitude et de nos sincères remerciements.

LISTE DES ABBREVIATIONS & SIGLES

ABREVIATIONS

Ac: Anticorp

ACT : Artemesinine based Combination Therapie

ADN: Acide désoxyribonucléique

AG: (*gambiae*)

An.: *Anopheles*

AR: *arabiensis*

Bp: Base paire

Bti: *Bacillus thurigiensis israelensis*

cm: Centimètre

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

° C: Degré Celsius

ddl: Degré de liberté

DNTP: Dinotrotriphosphate

& : Et

Fig. : Figure

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

GE: Goutte épaisse

GIS: Geographical information system

IDC : intervalle de confiance

IP : Indice plasmodique

IG : Indice gamétocytaire

IS : Indice splénique

Km: kilomètre

L1, L2, L3, L3, L4 : stades larvaires (larve de stade 1, 2, 3, et 4)

M: Forme Mopti

MP : Matrice périvitroïque

Min : minimum

Max : maximum

Mgcl₂: chlorure de magnésium

µl: microlitre

ml: Millimètre

µm: micromètre

mM: millimole

mn: minute

MRTC: Malaria Research and Training Center

N : Nombre

N° : Numéro

NS : nom scientifique

NV : nom vernaculaire

NFS : Numération formule sanguine

ng/ml: nano gramme par millilitre

OMS: Organisation mondiale de la Santé

P. : *Plasmodium*

PCR: Polymérase chaîne réaction

PNEP : Programme national d'éradication du paludisme

PNLP : Programme nationale de lutte contre le paludisme

% : Pourcentage

S : Forme Savane

s.l : Sens large ; **s.s** : Sens strict

Taq: Tacus aquaticus

T: temps

UE : Union Européenne

UN: Universel

UV: Ultraviolet

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

WHO: World Health Organization

X²: Khi carré

LISTE DES TABLEAUX & FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I</u> : Répartition de la population d'étude par groupe d'âge.....	49
<u>Tableau II</u> : Répartition de la population d'étude par sexe.....	49
<u>Tableau III</u> : Variations des indices paludométriques dans la population d'étude par passage.....	50
<u>Tableau IV</u> : Répartition des sujets retenus pour l'infestation expérimentale par groupe d'âge.....	51
<u>Tableau V</u> : Répartition des sujets retenus pour l'infestation expérimentale par sexe.....	52
<u>Tableau VI</u> : Répartition des porteurs de gamétocytes par type de toit.....	52
<u>Tableau VII</u> : Répartition des porteurs de gamétocytes en fonction de leurs charges gamétocytiques.....	52
<u>Tableau VIII</u> : Répartition des porteurs de gamétocytes en fonction du groupe sanguin.....	53
<u>Tableau IX</u> : Taux d'engorgement des moustiques par passage.....	53
<u>Tableau X</u> : Taux d'engorgement des moustiques par type de groupe sanguin.....	54
<u>Tableau XI</u> : Variations de la température et de l'humidité relative de l'insectarium durant le suivi des moustiques de l'infestation expérimentale.....	54
<u>Tableau XII</u> : Taux de mortalité des moustiques au huitième jour de l'infestation expérimentale.....	55
<u>Tableau XIII</u> : Variations des taux d'infections des moustiques par passage.....	56
<u>Tableau XIV</u> : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction du groupe d'âge.....	57
<u>Tableau XV</u> : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction de la charge gamétocytique.....	57
<u>Tableau XVI</u> : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction du groupe sanguin.....	58

<u>Tableau XVII</u> : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques par type de toit.....	58
<u>Tableau XVIII</u> : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction de la notion de prise d'antipaludiques.....	59
<u>Tableau XIX</u> : La moyenne géométrique des charges oocystiques chez les moustiques infectés d'oocystes.....	59
<u>Tableau XX</u> : Fréquence des oocystes chez la forme <i>M d'An. gambiae s.s.</i> infectée par le <i>P. falciparum</i> après la dissection.....	60
<u>Tableau XXI</u> : Composition des réactifs nécessaires pour la mixture à l'identification des espèces et des formes moléculaires d' <i>An. gambiae s.l.</i>	I

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Quelques stades évolutifs de <i>Plasmodium falciparum</i>	6
<u>Figure 2</u> : Cycle biologique du <i>Plasmodium</i>	8
<u>Figure 3</u> : Principales parties d'un moustique adulte.....	10
<u>Figure 4</u> : <i>Anopheles gambiae</i> lors de la prise du repas de sang.....	10
<u>Figure 5</u> : Cycle biologique d'un <i>Anophelinae</i>	13
<u>Figure 6</u> : Schéma d'un gamétocyte femelle (A) et mâle (B) de <i>P. falciparum</i>	14
<u>Figure 7</u> : Carte du Mali indiquant le site d'étude.....	32
<u>Figure 8</u> : La classification de la splénomégalie de Hackett.....	39
<u>Figure 9</u> : Prélèvement par piqûre au doigt.....	40
<u>Figure 10</u> : Confection d'une goutte épaisse.....	40
<u>Figure 11</u> : Séance de collecte des larves dans un gîte mixte.....	42
<u>Figure 12</u> : Tubes Falcon 50ml contenant des nymphes.....	42
<u>Figure 13</u> : Photographie de chromosomes polythènes d' <i>An. gambiae s.s</i>	44
<u>Figure 14</u> : Appareillage de l'infection sur membrane.....	46
<u>Figure 15</u> : Moustiques se gorgent de sang.....	46
<u>Figure 16</u> : Estomac d'Anophèle montrant des oocystes.....	48
<u>Figure 17</u> : Prévalence des indices plasmodique, gamétocytaire et splénique dans la population d'étude à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	51
<u>Figure 18</u> : Variation des taux de mortalité en fonction des paramètres de l'insectarium.....	55
<u>Figure 19</u> : Variation des taux d'infection des moustiques par passage.....	56
<u>Figure 20</u> : Identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.....	III

TABLE DES MATIERES

TABLES DES MATIERES	PAGES
1. INTRODUCTION.....	1
2. OBJECTIFS.....	4
2.1. Objectif général.....	4
2.2. Objectifs spécifiques.....	4
3. GENERALITES.....	5
3.1. Le parasite.....	5
3.1.1. Systématique.....	5
3.1.2. Morphologie.....	5
3.1.3. Cycle de développement du parasite.....	6
3.1.3.1. Cycle chez l'homme : La schizogonie.....	6
3.1.3.1.1. Cycle exo-érythrocytaire.....	6
3.1.3.1.2. Cycle érythrocytaire.....	7
3.1.3.2. Cycle chez l'anophèle : La sporogonie.....	7
3.2. Le vecteur.....	9
3.2.1. Systématique.....	9
3.2.2. Morphologie.....	9
3.2.3. Le complexe <i>Anopheles gambiae</i>	10
3.2.3.1. Systématique.....	11
3.2.3.2. Distribution géographique.....	11
3.2.4. Cycle de développement des anophèles.....	12
3.3. Biologie des gamétocytes.....	14
3.3.1. Définition.....	14
3.3.2. Origine des gamétocytes.....	14
3.3.3. Facteurs favorisant la gamétocytogénèse de <i>P. falciparum</i>	15
3.4. Facteurs influençant le développement de la sporogonie.....	16
3.4.1. Facteurs humains.....	16
3.4.1.1. Les anticorps anti-sporozoïtes.....	16
3.4.1.2. Les leucocytes.....	17

3.4.1.3.	Le complément.....	17
3.4.1.4.	Les facteurs inflammatoires et les cytokines.....	17
3.4.1.5.	Utilisation des médicaments antipaludiques.....	18
3.4.1.6.	Le type d'hémoglobine.....	18
3.4.2.	Facteurs parasitaires.....	18
3.4.2.1.	Gamétocytémie.....	19
3.4.2.2.	Le sex ratio des gamétocytes.....	19
3.4.2.3.	L'âge des gamétocytes.....	19
3.4.2.4.	Maturité et qualité des gamétocytes.....	19
3.4.2.5.	Une forte parasitémie asexuée.....	20
3.4.3.	Facteurs liés aux moustiques.....	20
3.4.3.1.	Les enzymes de la digestion.....	20
3.4.3.2.	La matrice péritrophique.....	21
3.4.3.3.	L'encapsulation mélanique dans l'hémolymphe.....	21
3.4.3.4.	La lyse intracellulaire des ookinètes dans l'épithélium de l'estomac...	22
3.4.3.5.	Les paramètres biologiques du moustique.....	22
3.4.4.	Facteurs environnementaux.....	23
3.4.4.1.	Le climat.....	23
3.4.4.2.	La température.....	23
3.4.4.3.	L'humidité.....	23
3.5.	Les méthodes de lutte contre le paludisme.....	23
3.5.1.	La lutte antivectorielle.....	24
3.5.1.1.	La lutte anti-larvaire.....	24
3.5.1.1.1.	La lutte biologique.....	24
3.5.1.1.2.	La lutte physique.....	25
3.5.1.1.3.	La lutte chimique.....	26
3.5.1.2.	La lutte anti-adulte.....	26
3.5.1.3.	La lutte génétique.....	27
3.5.2.	La lutte contre le parasite.....	27

3.5.2.1.	Traitement des accès palustres simples.....	27
3.5.2.2.	Traitement des accès palustres graves.....	28
3.5.2.3.	Utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine.....	28
3.5.3.	Mise au point d'un vaccin antipaludique.....	29
3.6.	Généralités sur l'infestation expérimentale.....	29
3.6.1.	Définition.....	29
3.6.2.	Historique.....	29
3.6.3.	Infestation direct ou « direct feeding ».....	30
3.6.4.	Infestation sur membrane ou « membrane feeding ».....	30
3.6.5.	Intérêt.....	30
3.6.6.	Inféctivité des porteurs de gamétocytes pour le moustique.....	30
4.	MATERIELS ET METHODES	32
4.1.	Lieu d'étude : Nanguilabougou.....	32
4.1.1.	Population.....	33
4.1.2.	Historique.....	33
4.1.3.	Relief et hydrographie.....	33
4.1.4.	Climat et végétation.....	34
4.1.5.	Economie.....	34
4.1.6.	Organisation administrative.....	35
4.1.7.	Infrastructure scolaire et socio-sanitaire.....	35
4.1.8.	Habitat et coutumes.....	35
4.2.	Justification du choix de Nanguilabougou.....	35
4.3.	Type et période d'étude.....	36
4.4.	Echantillonnage.....	36
4.5.	Considération éthique.....	36
4.6.	Sélection des porteurs de gamétocytes.....	37
4.6.1.	Organisation du travail.....	37
4.6.1.1.	Equipe parasito-clinique.....	37
4.6.1.2.	Equipe entomologique.....	37

4.6.2. Sélection des enfants de 4-12 ans.....	38
4.6.3. Dépistage.....	38
4.6.3.1. Prélèvement et mode opératoire de la GE.....	39
4.6.3.2. Coloration et lecture des lames.....	40
4.6.4. Convocation des porteurs de gamétocytes.....	41
4.7. Elevage des moustiques au laboratoire.....	41
4.7.1. Collecte et élevage des larves d' <i>An. gambiae s.l.</i>	41
4.7.2. Technique d'identification des moustiques au laboratoire.....	42
4.7.2.1. PCR (Polymerase chaine reaction).....	43
4.7.2.2. Cytogénétique.....	43
4.7.3. Etablissement de la colonie M forme d' <i>An. gambiae s.s.</i>	44
4.8. Procédures et méthode d'infestation expérimentale.....	45
4.8.1. Critères d'inclusion et de non inclusion.....	45
4.8.2. Principe et mode opératoire.....	45
4.8.3. Infestation sur membrane « membrane feeding » de la forme moléculaire M d' <i>An. gambiae s.s.</i>	46
4.9. Détermination des charges oocystiques des moustiques.....	47
4.10. Saisie et analyse des données.....	48
5. RESULTATS.....	49
5.1. Caractérisation sociodémographiques de la population d'étude à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	49
5.2. Prévalence de l'infection palustre chez les enfants de 4-12 ans à Nanguilabougou entre Septembre 2010 et Janvier 2011.....	50
5.3. Caractérisation des porteurs de gamétocytes de <i>P. falciparum</i> retenus pour l'infestation expérimentale entre Septembre 2010 et Janvier 2011.....	51
5.4. Etude des taux d'engorgement de la forme M moléculaire d' <i>An. gambiae s.s</i> après l'infestation expérimentale de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	53
5.5. Etude des taux de mortalité de la forme moléculaire M d' <i>An. gambiae s.s</i> avant la dissection de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	54
5.6. Etude des taux d'infection en oocystes de la forme moléculaire M d' <i>An. gambiae s.s</i> entre Septembre 2010 et Janvier 2011.....	56
5.7. Etude de la charge oocystique chez la forme M d' <i>An. gambiae s.s</i> de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	59

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	61
6.1. Prévalence de l'infection palustre chez les enfants de 4 -12 ans à Nanguilabougou...	61
6.2. Infestation expérimentale.....	62
6.2.1. Caractérisation des porteurs de gamétocytes de <i>P. falciparum</i> pour l'infestation expérimentale.....	62
6.2.2. Etude des taux d'engorgement chez la forme moléculaire M d' <i>An. gambiae s.s</i>	62
6.2.3. Etude des taux d'infection et de la charge oocystique chez la forme M d' <i>An. gambiae s.s</i>	63
7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	65
8. RESUME	67
9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	69
ANNEXES	I
I- Identification des espèces et des formes moléculaires par la PCR.....	I
II- Protocole d'identification des nouvelles émergences à la PCR.....	IV
III- Fiche dissection.....	V
IV- Fiche d'identification des porteurs de gamétocytes.....	VI
V- Fiche de l'infestation expérimentale.....	VII

INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie érythrocytopathie fébrile et hémolytique, dû à un hématozoaire (le parasite *P. falciparum*) transmis par la piqûre infestante d'un moustique du genre *Anopheles* (Gentilini, 1993).

Selon l'OMS (Rapport, 2011), la prévalence du paludisme a été réduite considérablement de plus de 50% dans 43 pays sur 99 touchés par le paludisme, alors que 8 autres pays ont affiché des tendances de baisse de 25 à 50%. En 2010, les estimations font état

de 216 millions d'épisodes palustres, dont 81% dans la région Afrique de l'OMS, soit 174 millions de cas. Le nombre des décès dus au paludisme est estimé à 655000 pour l'année 2010, dont 91% en Afrique. A l'échelle mondiale, 86% des décès imputables au paludisme ont frappé des enfants de moins de 5 ans.

Au Mali, le paludisme représente 35% de l'ensemble des motifs de consultation dans les centres de santé et hôpitaux, et est la première cause de morbidité (soit 32,4%) et de mortalité (soit 45,7%) chez les enfants de moins de 5 ans (Rapport PNLP Mali, 2010).

Les principaux vecteurs du paludisme rencontrés au Mali sont : *An. gambiae s.l* et *An. funestus* (Touré et al., 1979). Les études de Touré et al., en 1994 et 1998 ont montré que *An. gambiae s.l* est composé de *An. gambiae s.s* avec ses trois formes chromosomiques Bamako, Mopti et Savane et *An. arabiensis*.

Le paludisme est essentiellement dû à quatre espèces plasmodiales (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. vivax*). Aujourd'hui une cinquième espèce est décrite, il s'agit de *Plasmodium knowlesi* (Bronner et al., 2009).

Au Mali, trois des cinq espèces plasmodiales se rencontrent fréquemment avec une prédominance de *P. falciparum* (plus de 85%) suivi de *P. malariae* (10-15%) et *P. ovale* (1%) (Dumbo et al., 1991). Un seul cas de *P. vivax* a été décrit par Koïta en 1988 dans le nord du Mali chez les populations leucodermes. Le *P. falciparum* est l'espèce plasmodiale la plus dangereuse et est responsable des formes graves et compliquées du paludisme (Koïta, 1988).

Suite à l'échec des campagnes d'éradication (OMS, 1995), l'OMS a proposé de nouvelles stratégies de lutte antipaludique à la conférence ministérielle d'Amsterdam en 1992 axées sur quatre composantes techniques: (i) le diagnostic précoce et le traitement rapide des cas de fièvre, (ii) la planification et la mise en œuvre de mesures de prévention sélectives et durables y compris la lutte antivectorielle, (iii) la sélection précoce, l'endiguement ou la prévention des épidémies, (iv) le renforcement des capacités locales en matière de recherches fondamentale et appliquée pour permettre et favoriser une évaluation régulière de la situation du paludisme dans les différents pays.

Le Mali, conformément à la déclaration d'Amsterdam (1992), dispose depuis 1993 d'un Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP). Les stratégies de lutte contre le paludisme appliquées par ce programme s'inspirent fortement des stratégies mondiales de lutte contre le paludisme à savoir : (i) la quinine pour la prise en charge des cas de paludisme

grave, (ii) les combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine (CTA) en comprimé pour le traitement du paludisme simple (Artésunate-Amodiaquine et Artémether-Luméfántrine), (iii) utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides par les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans, (iv) le traitement préventif intermittent à base de Sulfadoxine-Pyriméthamine chez la femme enceinte (4^{ème} et 7^{ème} mois), (v) la pulvérisation intradomiciliaire sera généralisée dans les zones de l'épidémie de paludisme.

Malgré ces différentes stratégies de lutte au niveau national, l'OMS encourage de plus en plus les efforts de recherches pour une meilleure compréhension de la bioécologie du moustique et les interactions de ce vecteur avec le parasite dans la quête de nouvelles stratégies et outils de lutte.

La compréhension des mécanismes impliqués dans le développement de l'immunité humaine limitant l'infection des moustiques serait d'une grande importance dans le blocage de la transmission de la maladie. La transmission du paludisme dépend en priorité, d'une communauté humaine sensible et d'un vecteur anthropophile (qui prend son repas de sang sur l'homme) et compétent. Les facteurs climatiques comme la température, l'humidité et les pluies jouent un rôle important sur le développement larvaire. La compétence vectorielle dépend des facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (environnements) comme : la physiologie de l'insecte, les systèmes de défenses antiparasitaires, les habitudes de piqûres et de repos, et le microclimat de leur habitat (Bassene, 2007).

Depuis la mise au point du gorgement sur membrane pour l'infection des moustiques (Rutledge et al., 1964), les mécanismes de la transmission du paludisme à l'homme par le moustique sont mieux appréhendés.

Les études de Touré et al., en 1998, ont montré que *An. gambiae s.l* s'infectaient mieux sur les porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* âgés de 4 à 18 ans que chez les adultes de plus de 18 ans. Diallo et al., en 2008 ont déterminé que le taux d'infection chez *An. gambiae s.l* est nettement plus élevé lorsque l'infestation est direct « direct feeding » que indirecte « membrane feeding ». Mais, ils ont conclu que cette différence d'infectivité peut être compensée en utilisant trois fois plus de moustiques pour la membrane feeding.

De nos jours, aucune étude d'infectivité expérimentale n'a été réalisée au Mali sur les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s*, afin d'observer le comportement de ces formes par rapport aux porteurs de gamétocytes de *P. falciparum*.

Les études sur la distribution spatiale et saisonnière des formes moléculaires M et S ont montré que la forme moléculaire M prédominait largement sur une grande aire de distribution spatiale et en toute saison (Della Torre et *al.*, 2005).

C'est dans ce but, que nous nous sommes intéressés à l'infectivité des gamétocytes de *P. falciparum* chez la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* à Nanguilabougou.

En effet, l'ingestion des gamétocytes matures conditionne la poursuite du cycle de développement du parasite chez le vecteur (Smalley, 1976; Jensen, 1979). Ils peuvent conserver leur capacité à infecter le moustique pendant trois semaines après leur maturation.

Les études menées par (Muirhead Thomson, 1957; Chutmongkonkul et *al.*, 1992; Githeko et *al.*, 1992; Boudin et *al.*, 1993) ont montré le rôle du stade oocyste comme marqueur potentiel de l'infection des moustiques. Ainsi, ils ont pu évaluer les capacités de *P. falciparum* à poursuivre son développement chez le moustique et inversement les capacités du vecteur à transmettre le parasite. De ce fait, à la fin de cette étude nous espérons déterminer si:

- le pouvoir infectieux des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* aura un effet sur l'infection des moustiques de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* ?
- la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* se comportera différemment d'un porteur de gamétocytes à un autre?

OBJECTIFS

2- OBJECTIFS

2-1- Objectif général

Etudier l'infectivité des gamétocytes de *P. falciparum* chez la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* dans le village de Nanguilabougou.

2-2- Objectifs spécifiques

- Evaluer la prévalence de l'infection palustre chez les enfants de 4-12 ans dans le village de Nanguilabougou pendant la période de transmission ;
- Evaluer le taux d'engorgement de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* selon le groupe sanguin des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* ;
- Evaluer le taux de mortalité de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* selon le groupe sanguin des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* après l'infestation expérimentale ;
- Déterminer le taux d'infection et la charge oocystique de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* selon le groupe sanguin des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum*.

GENERALITES

3- GENERALITES

La transmission du paludisme est un processus complexe qui requiert la rencontre de trois organismes : le parasite (*Plasmodium*), l'hôte vertébré (Homme) et le moustique vecteur (*Anopheles*). L'interaction entre ces trois éléments est largement influencée par l'environnement avec ses composantes biologiques, physiques, climatiques et humaines. Les mesures de lutte préconisées par l'OMS sont de deux ordres : les mesures curatives basées sur la prise en charge rapide et correcte des cas de paludisme et les mesures préventives utilisant la chimioprophylaxie et la lutte antivectorielle. Ces dernières années, il y a un regain d'intérêt pour la lutte antivectorielle car elle permet d'une part d'éviter le contact entre l'homme et le vecteur et d'autre part de combattre le vecteur par des moyens appropriés afin de diminuer la transmission de la maladie. Mais le succès dans son application nécessite une très bonne connaissance de la bioécologie du vecteur.

3-1- Le parasite

3-1-1- Systématique

Les *Plasmodia* appartiennent au règne *Animal*, au sous règne des *Protozoa*, au phylum des *Apicomplexa* à la classe des *Sporozoa*, à la sous-classe des *Coccidia*, à l'ordre des *Eucoccidiida*, au sous-ordre des *Haemosporiina*, à la famille des *Plasmodiidae*, au genre *Plasmodium*. Cinq espèces du genre *Plasmodium* sont inféodées à l'homme. Il s'agit de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi* (Bronner et al., 2009). L'espèce *P. falciparum* est à la fois la plus répandue en Afrique subsaharienne et la seule susceptible de donner des complications mortelles. D'autres *Plasmodia* infectent les animaux tels que *P. berghei* (Rongeurs) ; *P. cynomolgi* (Singe).

3-1-2- Morphologie

Le *Plasmodium* est un protozoaire de très petite taille (1 à 2 μ selon les formes). La coloration au May-Grünwald-Giemsa montre qu'il est formé d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire, et contenant un noyau rouge et de l'hémozoïne (pigment brun doré ou noir). L'illustration ci-dessous présente quelques stades évolutifs de *P. falciparum*.

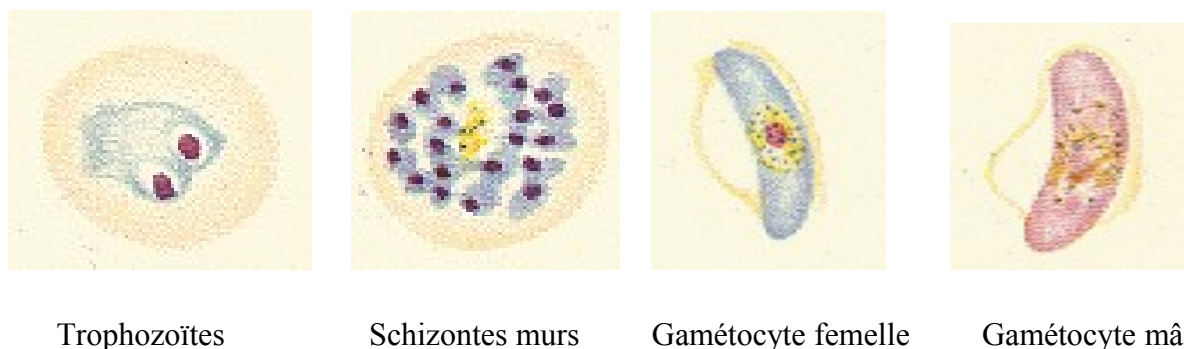


Figure 1: Quelques stades évolutifs de *Plasmodium falciparum*

[<http://www.rph.wa.gov.au/malaria/falcip.gif> mai2010]

3-1-3- Cycle de développement du parasite

La figure 2 présente le cycle de développement des plasmodies chez l'homme et chez le moustique.

3-1-3-1- Cycle chez l'homme : La schizogonie

La multiplication du parasite est asexuée. Au cours du repas sanguin, l'anophèle femelle infectée inocule à l'homme des centaines voire des milliers de sporozoïtes. Ces sporozoïtes fusiformes sont des formes parasitaires de 15µm de long sur 1 à 2µm de large. Ils ne restent dans la circulation sanguine qu'une demi-heure et gagnent rapidement le foie où va commencer le cycle exo érythrocytaire ou (intra hépatique).

3-1-3-1-1- Cycle exo- érythrocytaire

Les sporozoïtes pénètrent dans les hépatocytes où ils se «cachent» sous le nom de cryptozoïtes. Après 40 à 50 heures, ces cryptozoïtes subissent une multiplication asexuée (schizogonie intra hépatique) aboutissant à la formation du «corps bleu» schizonte de 30 à 70µm de diamètre. Les schizontes murs peuvent contenir 10.000 à 30.000 noyaux autours desquels s'individualisent des fragments de cytoplasme aboutissant à la formation des mérozoïtes qui sont libérés dans la circulation sanguine par éclatement des hépatocytes infectés.

Certains cryptozoïtes peuvent rester quiescents pendant un temps variable (quelques mois à plusieurs années). Il y aurait ainsi deux populations de sporozoïtes, les uns évoluant immédiatement jusqu'au stade schizonte intra hépatique et les autres appelés hypnozoïtes restants «endormis» dans les hépatocytes. *P. falciparum* et *P. malariae* sans doute ne

comportent ni hypnozoïtes, ni schizogonie tissulaire secondaire. Ces hypnozoïtes sont responsables de reviviscence schizogoniques dans le cas de *P. ovale* et *P. vivax*.

La durée du cycle pré-érythrocytaire est en moyenne de 8 jours pour *P. vivax*, 6 jours pour *P. falciparum*, 13 jours pour *P. malariae* et 9 jours pour *P. ovale*. [<http://lozere.org/perso/malaria/parasit.htm#HOM> mai2010]

3-1-3-1-2- Cycle érythrocytaire

Après leur libération dans la circulation sanguine, les mérozoïtes hépatiques vont rapidement envahir les érythrocytes et initier le stade sanguin. Une fois entré, le mérozoïte va se transformer en anneau, caractérisé par un cytoplasme très fin entourant la vacuole parasitophore. Ensuite le cytoplasme s'épaissit et le parasite augmente de taille. A ce stade, appelé trophozoïte, apparaissent des grains de pigment dans le cytoplasme, qui résultent de la dégradation de l'hémoglobine en hémozoïne. Ce trophozoïte entame une série de mitoses jusqu'à la formation d'un schizonte mature (rosace) qui éclate en rompant la membrane du globule rouge pour libérer, selon l'espèce, de 8 à 32 mérozoïtes. Ces derniers peuvent ensuite envahir d'autres érythrocytes. La durée de maturation au cours du cycle endoérythrocytaire est une caractéristique de chaque espèce plasmodiale. Chaque cycle érythrocytaire dure 48 heures pour *P. vivax*, *P. ovale* ou *P. falciparum* et 72 heures pour *P. malariae*, rythmant ainsi les accès thermiques (fièvres tierces pour les premiers cas, quarte dans le second) [<http://lozere.org/perso/malaria/parasit.htm#HOM> mai2010].

Dans le sang s'amorce enfin le cycle sexué ou sporogonique. Après plusieurs cycles schizogoniques, certains trophozoïtes vont être détournés du cycle érythrocytaire pour former des éléments à potentiel sexué (mâle et femelle), les gamétocytes, première étape d'une phase sexuée chez l'hématozoaire. A maturité, les gamétocytes restent dans le sang périphérique de l'homme ; c'est un stade bloqué [<http://lozere.org/perso/malaria/parasit.htm#HOM> mai2010].

Les gamétocytes ne vont continuer leur cycle de développement que s'ils sont ingérés par un anophèle femelle lors d'un repas sanguin sur un paludéen.

3-1-3-2- Cycle chez l'anophèle : La sporogonie

Au cours de son repas de sang sur l'homme le moustique (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 macrogamète ; chez le gamétocyte mâle, la microgamétogénèse ou exflagellation est plus lente : le noyau se divise donnant naissance à huit microgamètes mâles flagellés, d'environ 20µm, très mobiles qui vont rapidement à la rencontre des macrogamètes femelles [<http://lozere.org/perso/malaria/parasit.htm#HOM> mai2010].

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, mobiles et allongés au bout de 18 à 24 heures. Les ookinètes pénètrent l'épithélium stomacal pour se transformer à l'intérieur en oocystes non mobiles. Les oocystes sont des éléments circulaires au contour régulier, qui se fixent sur la paroi de l'estomac du moustique. A partir de ces oocystes s'individualisent les sporozoïtes qui seront localisés dans les glandes salivaires. Ces sporozoïtes, lors d'un prochain repas de sang du moustique, sont inoculés à l'homme [<http://lozere.org/perso/malaria/parasit.htm#HOM> mai2010].

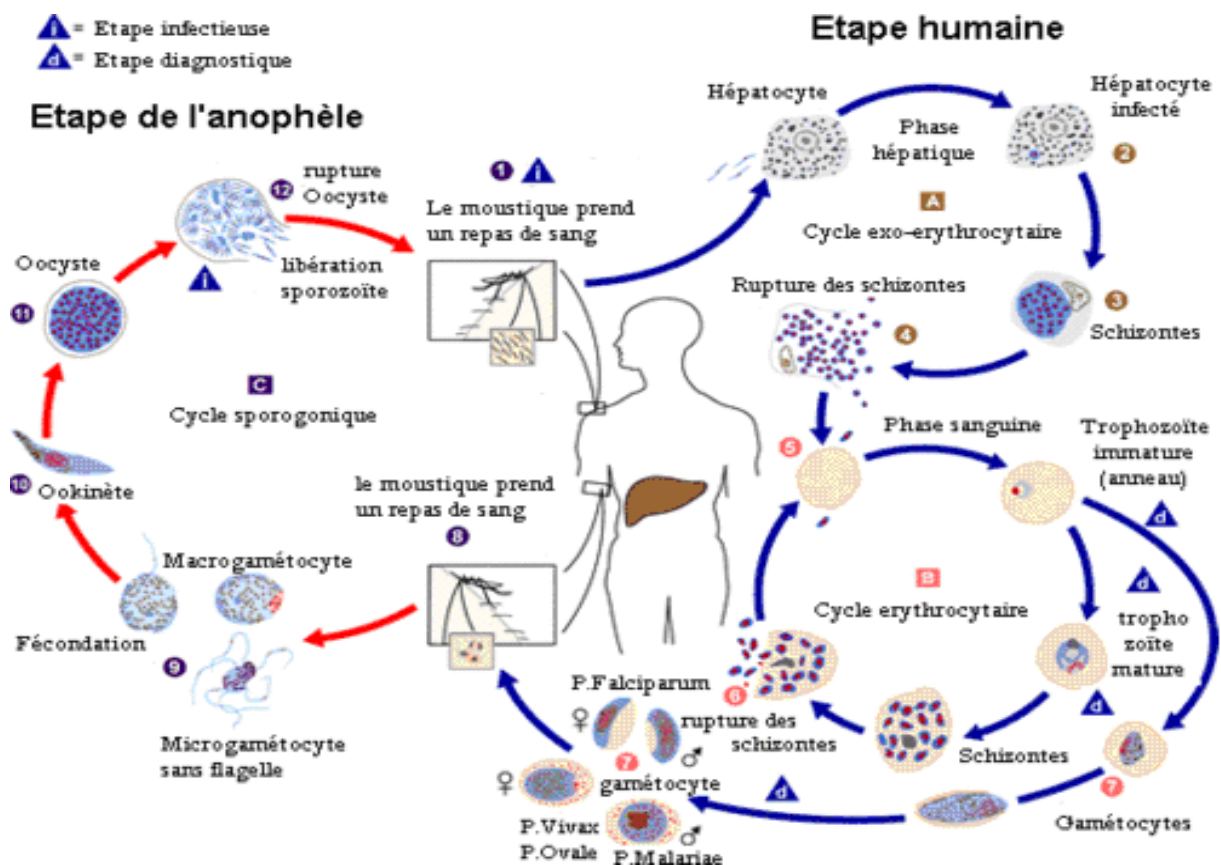


Figure 2 : Cycle biologique du *Plasmodium*

[http://www.unituebingen.de/modeling/Mod_Malaria_Cycle_fr.html Avril2011]

3-2- Le vecteur

3-2-1- Systématique

Les moustiques appartiennent au règne *Animal*, au sous-règne des *Métazoaires*, à l'embranchement des *Arthropodes*, au sous-embranchement des *Trachéates*, à la classe des *Insectes*, à la sous-classe des *Ptérygotes*, à l'ordre des *Diptères*, au sous ordre des *Nématocères*, et à la famille des *Culicidés*. La famille des culicidés comprend quatre sous-familles qui sont : la sous-famille des *Anophelinae*, la sous-famille des *Toxorhynchitinae*, la sous-famille des *Aedinae*, et la sous-famille des *Culicinae*.

3-2-2- Morphologie

Plus de 3000 espèces de moustiques sont décrites dans le monde parmi lesquelles, seulement une soixantaine, appartenant au genre *Anopheles*, peut transmettre des *Plasmodia* à l'homme (Fontenille et al., 2005). En Afrique, les vecteurs de *Plasmodium* sont généralement des complexes d'espèces morphologiquement identiques, mais ayant une biologie et des caractères génétiques variés. Ces espèces ont des capacités vectorielles différentes. Comme pour tous les moustiques, les anophèles ont le corps divisé en trois parties: la tête, le thorax et l'abdomen (Voir figure 3). La tête porte deux gros yeux, une paire d'antennes, et les pièces buccales. Le thorax est formé de trois segments portant chacun une paire de pattes. Sur les deux derniers segments du thorax s'insère une paire d'ailes. L'abdomen est formé de dix segments. Chaque segment est constitué d'une plaque chitineuse dorsale et d'une plaque ventrale reliée par une membrane qui autorise la dilatation de l'abdomen par exemple lors de la prise d'un repas de sang. L'ensemble trompe- tête-thorax-abdomen est dans le même alignement (figure 3). Lors du repos cet alignement forme par rapport au support un angle aigu caractéristique des anophèles.

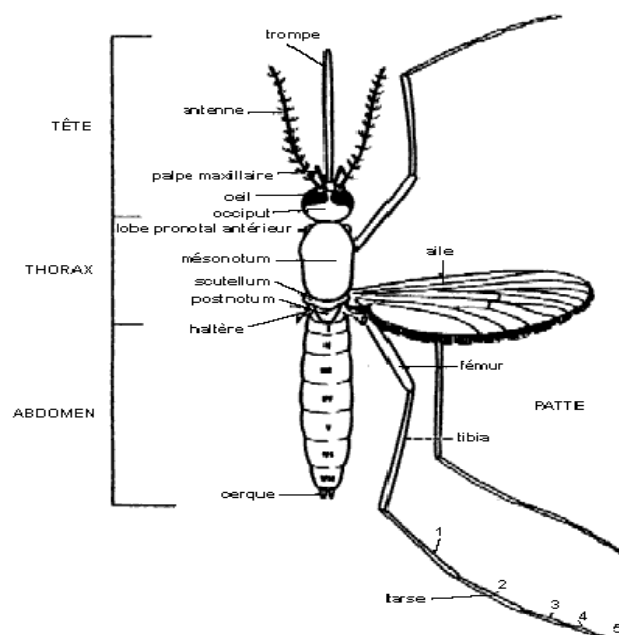


Figure 3: Principales parties d'un moustique

[<http://www.ac-reunion.fr/hygieneetsecurite/chik/pdf/bio-mous.pdf> Avril2010]

3-2-3- Le complexe *Anopheles gambiae*

Le complexe est un ensemble d'espèces différentes génétiquement, non interfécondes dans la nature, mais identiques morphologiquement (Fontenille et *al.*, 2005). *An. gambiae* est un moustique de taille moyenne. Chez l'adulte les pattes sont tâchetées; chaque segment abdominal porte deux tâches pâles en position ventrale. Les palpes maxillaires sont aussi longs que la trompe.



Figure 4: *Anopheles gambiae* lors de la prise du repas de sang

[http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/09262002/00008/A.gambiae.1354.p_lores.jpg2001].

3-2-3-1- Systématique

De nos jours, le complexe *An. gambiae s.l* regroupe sept espèces: *An. gambiae s.s.* (Giles, 1902), *An. arabiensis* (vecteurs majeurs de *Plasmodium*), *An melas*, *An. merus*. *An. bwambae*, *An. quadriannulatus A* et *An. quadriannulatus B* décrit récemment en Ethiopie par Hunt et al. (1998). *An melas*, *An. merus*. *An. bwambae*, *An. quadriannulatus A* et *An. quadriannulatus B* ont un rôle nul ou faible dans la transmission du paludisme. Ces espèces sont morphologiquement identiques, mais présentent des barrières de reproduction et des préférences écologiques distinctes.

3-2-3-2- Distribution géographique

La distribution du complexe *An. gambiae s.l* est très localisée. *An. gambiae s.s* et *An. arabiensis* ont une aire de distribution plus vaste en Afrique (Fontenille et al., 2003). L'*An. gambiae s.s* est rencontré dans la quasi totalité de l'Afrique subsaharienne non méridionale (Mali, Guinée, Cameroun etc.).

Au Mali, les principaux vecteurs du paludisme rencontrés sont *Anopheles gambiae s.l* et *Anopheles funestus* (Touré, 1979). Les études de Touré et al., en 1998 ont montré qu'au Mali, *An. gambiae s.l* est constitué par *An. arabiensis* et trois formes chromosomiques d'*An. gambiae s.s* dénommées : Bamako, Mopti et Savane. La biologie moléculaire décrit deux formes moléculaires par l'amplification de l'ADN ribosomal (Favia et al., 2001 et Fanello et al., 2002). La forme moléculaire M correspond à la forme chromosomique Mopti et la forme moléculaire S qui inclut les formes chromosomiques Bamako et Savane. Cette dénomination M et S n'est pas valable dans tous les pays, mais elle l'est au Mali, au Burkina Faso et en Côte d'Ivoire (Fontenille et al., 2003).

Les espèces rencontrées à Bancoumana sont *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis* et *An. funestus*, mais l'espèce prédominante à 90 % est *An. gambiae s.s.* (Coulibaly, 1999).

La distribution géographique des quatre taxa d'*An. gambiae s.l* rencontrés au Mali se répartit comme suit : (i) *An. arabiensis* est prévalent en saison sèche, en dehors des zones inondées ; (ii) la forme Mopti (M) est prévalente dans les zones inondées du Delta central du fleuve Niger et aussi bien dans les zones sèches que dans les zones humides ; (iii) les formes Bamako et Savane sont fréquentes dans les zones humides au Sud du Mali et aux bordures des rivières.

La distribution saisonnière de ces quatre taxa est caractérisée par une haute fréquence de *An. arabiensis* et de la forme Mopti de *An. gambiae s.s* quand le climat est relativement sec au début et à la fin de la saison pluvieuse. Tandis que les formes Bamako et Savane de *An. gambiae s.s* sont prédominantes au milieu de la saison pluvieuse quand le temps est humide et frais.

3-2-4- Cycle de développement des anophèles

Le vecteur du paludisme est un moustique du genre *Anopheles*. Son développement est caractérisé par la succession de deux phases : la première est aquatique et recouvre la vie pré-imaginale, c'est à dire l'œuf, les stades larvaires et la nymphe. La seconde est aérienne et concerne l'adulte, ou imago.

Pour tous les moustiques, le cycle biologique est le même; il comprend de façon générale quatre stades:

❖ Les œufs:

Le lieu de ponte varie en fonction des espèces mais généralement celle-ci se fait au niveau des rizières, lacs, rivières et plus habituellement au niveau de flaques d'eau. Ce sont 100 à 150 œufs qui sont déposés au cours d'une ponte. La maturation des œufs nécessite la prise de repas sanguin par le moustique femelle tous les deux à trois jours. La femelle est capable de pondre pendant toute son existence (environ 30-40 jours) soit entre 3 et 7 pontes selon les conditions environnementales.

❖ Les larves:

Un à deux jours après la ponte, les larves émergent des œufs et restent à la surface de l'eau pour respirer. Le développement de ces larves s'effectue en quatre stades dont le premier est l'éclosion des œufs en larve. A la fin de la quatrième phase, la larve se transforme en nymphe. Généralement 8 à 10 jours sont requis pour passer de l'œuf à la nymphe.

❖ Les nymphes:

Ce stade dure deux à trois jours, à son terme, va émerger le moustique adulte. C'est l'une des transformations les plus importantes du cycle biologique des moustiques : elle marque le passage de la vie aquatique à la vie aérienne.

❖ Les adultes:

Pour la pérennité du cycle, les moustiques s'accouplent le plus tôt que possible. La femelle ne s'accouple qu'une seule fois et prend son premier repas sanguin juste après la copulation, un deuxième repas sanguin sera nécessaire pour certaines espèces avant d'arriver à la production d'œufs. La connaissance du nombre de repas sanguin avant la première ponte et l'intervalle de temps qui s'écoule entre les repas sanguins et la ponte permet de déterminer le cycle gonotrophique de chaque espèce. Chez l'anophèle femelle adulte, la maturation des sporozoïtes de *P. falciparum* dure environ 12 jours, une période longue par rapport à la vie de l'anophèle. Ainsi seuls les anophèles infectés lors de leurs premier repas peuvent devenir infectants. Le moustique adulte a le corps divisé en trois parties distinctes: la tête, le thorax et l'abdomen avec chacune ses éléments constitutifs (Voir Fig. 3).

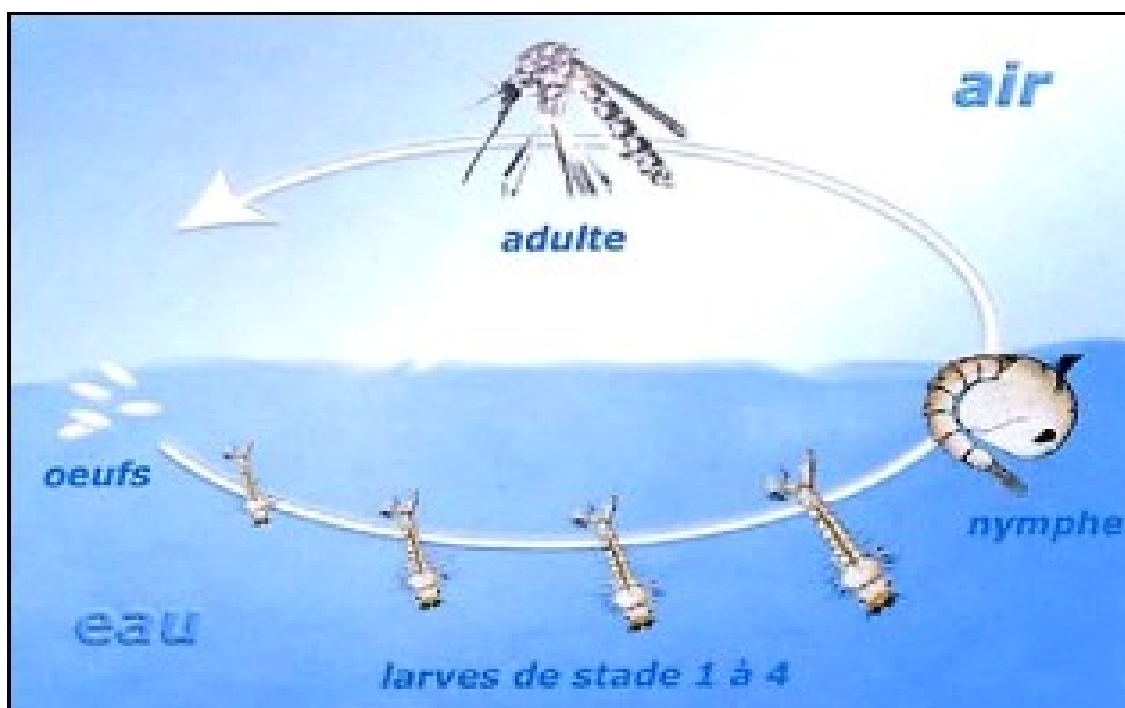


Figure 5: Cycle biologique d'un *Anophelinae*

[<http://pagespersoorange.fr/SVT.oceanIndien/cyclemoustique/cyclemoustique.htm2008>].

L'étude du comportement des anophèles vecteurs est indispensable dans les stratégies de contrôle de la transmission. Les anophèles piquent à partir du coucher du soleil jusqu'au petit matin.

D'autres caractères peuvent aussi varier suivant les espèces: certaines préfèrent piquer à l'intérieur des habitations et s'y reposent après, elles sont alors dites endophages et

endophiles, par contre d'autres espèces piquent à l'extérieur et y restent, elles sont alors qualifiées d'exophages et exophiles. A cela peuvent s'ajouter les préférences trophiques: certaines espèces se piquent préférentiellement l'homme et sont dites anthropophiles, alors que d'autres prennent le repas de sang majoritairement chez l'animal et sont dites zoophiles (Besansky et al., 2004).

3-3- Biologie des gamétocytes

3-3-1- 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.



Figure 6 : Schéma d'un gamétocyte femelle (A) et mâle (B) de *P. falciparum*

[http://www.pasteur.mg/Atelier-Palu/2004/pdf/presentations/silai_s2.pdf].

3-3-2- Origine des gamétocytes

Les gamétocytes de *P. falciparum* proviennent de stades sanguins asexués (Sinden, 1998). On n'observe pas chez les *Plasmodia* 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 immunitaire 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 gamétocythémie suffit pour assurer le développement sporogonique et par conséquent une transmission vecteur-homme (Taylor *and* Read, 1997).

3-3-3- Facteurs favorisant 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 gamétocytogénèse sont très variés :

- les fortes charges parasitaires asexuées (Trape *et al.*, 1994) ;
- l'anémie est aussi une situation de stress et s'accompagne souvent de poussées gamétocytaires (Von Seidlein *et al.*, 2001) ;
- certains médicaments ont un rôle direct sur la gamétocytogénèse. La chloroquine, comme les amino-4-quinoléines, est gamétophytique sur les stades gamétocytaires jeunes (I à III), mais des observations récentes ont montré que ce médicament est également gamétocytogénique (Buckling *and* Read, 1999) ; l'association sulfadoxine+pyriméthamine (SP) est non seulement gamétocytogénique, mais également sporonticide. Les dérivés de l'artémisinine sont fortement gamétocytogéniques (Target *et al.*, 2001) d'où la nécessité de connaître leur effet sur la gamétocytogénèse et la transmission, afin de pouvoir les utiliser de façon optimale en santé publique. Actuellement, on privilégie beaucoup les associations médicamenteuses (Guérin *et al.*, 2002) pour diminuer l'induction de la gamétocytogénèse ;
- le retard au traitement de l'accès palustre est probablement aussi un facteur de risque de la gamétocytogénèse, à cause de l'augmentation du temps de souffrance du parasite asexué avant traitement. Au contraire, une prise en charge très rapide et efficace de l'accès palustre ou des fortes charges parasitaires asexuées diminue fortement la gamétocythémie dans la population (Sokhna *et al.*, 2001) ;

- certaines souches sont probablement plus gamétocytogènes que d'autres (Graves et *al.*, 1984). Mais ceci est très variable en fonction du temps. La culture continue de *P. falciparum* fait généralement perdre à la longue la capacité gamétocytogène (Ponnudurai et *al.*, 1982 ; Graves et *al.*, 1984). Par contre, le passage régulier d'un hôte intermédiaire à un hôte définitif maintient cette capacité (Birago et *al.*, 1982). Des souches ne produisant plus de gamétocytes après plusieurs passages chez un même hôte pourraient redevenir gamétocytogènes en changeant d'hôte.

3-4- Facteurs influençant le développement de la sporogonie

3-4-1- Facteurs humains

Lors du repas sanguin, le moustique absorbe, en même temps que les gamétocytes, des facteurs sériques ou des cellules sanguines qui peuvent avoir un rôle sur le développement du parasite. Parmi ces facteurs inhibiteurs humains, certains existent naturellement chez l'homme sensibilisé vivant en zone d'endémie (anticorps antisexués, anticorps anti-sporozoïtes, cytokines, complément, cellules immunocompétentes), d'autres peuvent être induits artificiellement par vaccination (anticorps contre Pfs25, anticorps contre les tissus de moustique).

3-4-1-1- Les anticorps anti-sporozoïtes

L'homme vivant en zone d'endémie palustre synthétise des anticorps anti-sporozoïtes (Hoffman et *al.*, 1986 ; Nardin et *al.*, 1979 ; Nussenzweig et *al.*, 1985). Les Ig G de l'hôte vertébré, ingérées au cours de n'importe quel repas sanguin par le moustique, passent du tube digestif vers l'hémocèle (Vaughan et *al.*, 1988). Ce mécanisme peut avoir des conséquences si un repas de sang est pris sur un homme avec des Ac anti-CSP (protéine circumsporozoitaire) et si le moustique héberge à ce moment des sporozoïtes à la suite d'un précédent repas de sang infectant. Dans le système *P. falciparum/An. stephensi*, les Ac anti-sporozoïtes traversent non seulement la paroi digestive, mais aussi la paroi des glandes salivaires (Beier et *al.*, 1989). La concentration atteint son maximum 3 heures après ingestion puis les Ac disparaissent vers 18-24 heures (Vaughan et *al.*, 1988 ; 1990). Ces Ac s'attachent aux sporozoïtes circulant dans l'hémolymphe, mais progressivement la fluorescence de la membrane se perd, évoquant un mécanisme de perte progressive du manteau antigénique CSP. Les mécanismes d'action de ces Ac anti-CSP sont très divers, mais ils peuvent déclencher une réaction de précipité à la surface du parasite (Vanderberg et *al.*, 1969),

entraînant l'immobilisation du sporozoïte. Dans ces conditions, on peut penser que des repas sanguins successifs, riches en Ac anti-CSP et pris pendant la phase de migration des sporozoïtes, peuvent réduire la charge sporozoïtaire des glandes salivaires. Cependant, la concentration des anticorps anti-sporozoïtes chez le moustique est nettement moins importante que la concentration chez l'homme (Vaughan *et al.*, 1990). On a montré que seuls des taux élevés d'Ac anti-sporozoïtes pouvaient inhiber l'infectivité, détruire le parasite ou empêcher l'invasion tissulaire par les sporozoïtes.

Au contraire, de faibles taux seraient plutôt potentialisateurs (Nudelman *et al.*, 1989 ; Peiris *et al.*, 1988 ; Ponnudurai *et al.*, 2000). Dans ces conditions, il est fort peu probable que de telles concentrations dans l'hémocèle du moustique puissent avoir un effet inhibiteur sur la maturation oocystique, la migration des sporozoïtes et sur l'envahissement des glandes salivaires du moustique. Une question non résolue est de savoir si les taux d'Ac naturels rencontrés dans les zones endémiques peuvent avoir un effet facilitateur.

3-4-1-2- Les leucocytes

Il a été démontré que la phagocytose des gamètes existait dans l'estomac du moustique (Lensen *et al.*, 1998 ; Sinden *et al.*, 1976). De par la courte demi-vie des gamètes, de l'ordre de quelques minutes, ce stade parasitaire ne peut probablement pas être la cible d'une phagocytose dans l'estomac du moustique. La phagocytose simple n'expliquerait que 7% des pertes parasitaires *in vivo*. Par contre, des études expérimentales semblent montrer que l'association, leucocytes activés par des opsonines et cytokines, jouerait un rôle non négligeable en contrariant le développement parasitaire dans l'anophèle (Naotune *et al.*, 1993).

3-4-1-3- Le complément

L'importance du complément dans l'activité inhibitrice des anticorps anti-Pfs230 a été largement démontrée (Healer *et al.*, 1997). Le complément pourrait aussi intervenir seul après activation par la voie alterne qui ne dépend pas de la formation d'immuns complexes. En fait, les études *in vivo* ne semblent pas montrer de rôle inhibiteur sur l'infectivité pour les sérums immuns décomplémentés ou non, au moins au Cameroun, où les anticorps Pfs230 sont rarement rencontrés (Tchuinkam *et al.*, 1993).

3-4-1-4- Les facteurs inflammatoires et les cytokines

La présence de protéine C réactive ne semble pas inhiber l'infectivité des porteurs de gamétocytes (Mulder *et al.*, 1998). Nous avons mentionné ci-dessus le rôle potentiel du TNF avec les leucocytes ingérés. Cependant, le TNF a une courte durée de vie et a généralement disparu quand les gamétocytes mûrs de *P. falciparum* apparaissent. Aucune autre étude n'a abordé directement le rôle des facteurs inflammatoires et des cytokines sur l'infectivité des porteurs de gamétocytes (Tchuinkam *et al.*, 1993).

3-4-1-5- Utilisation de médicaments antipaludiques

Les médicaments antipaludiques sont capables d'influencer la transmission du parasite de l'homme au moustique. La primaquine et la pamaquine ont une action gamétocydyque chez *P. falciparum* (Jeffery and Eyles, 1955 ; Bruce-Chwatt *et al.*, 1986) alors que des sérums de volontaires européens jamais exposés au paludisme et sous prophylaxie à base de proguanil-chloroquine étaient capables de réduire la transmission au cours d'infections expérimentales (Ponnudurai *et al.*, 1989). Cependant, des sérums contenant seulement la chloroquine n'ont pas montré d'action sur la sporogonie (Chutmongkonkul *et al.*, 1992) mais semblent favoriser la transmission des souches chloroquino-résistantes (Robert *et al.*, 1996). Par ailleurs, il a été observé *in vitro* que la pyriméthamine et l'halofantrine rendaient les gamétocytes plus infectieux (Chutmonkonkul *et al.*, 1992).

3-4-1-6- Le type d'hémoglobine

Il est connu que le développement des stades sexués débute par l'invasion du globule rouge par le parasite. Seul ce stade sexué est en mesure de continuer le cycle du *Plasmodium* chez le moustique. Il constitue par conséquent un paramètre important dans la transmission du paludisme. Cependant, il est suspecté que les stades asexués en fortes charges sont susceptibles à se transformer sous l'effet stressant du milieu (rejet de toxines et pression immunitaire) en stades sexués. Les HbS et HbC sont capables d'inhiber la croissance parasitaire pour aboutir à de charges parasitaires moins élevées (Modiano *and al.*, 2001) à tel point que les gamétocytes soient faiblement ou rarement produites influençant ainsi la transmission. Cependant, Robert *et al.*, 1996 lors d'une étude au Sénégal montrèrent que les porteurs du type d'hémoglobine AS malgré leurs faibles gamétocytemies infectaient plus de moustiques que les porteurs d'hémoglobine normale AA. L'hémoglobine aurait donc un rôle spécifique dans la transmission du paludisme indépendamment de la densité de gamétocytes.

3-4-2- Facteurs parasitaires

Un certain nombre de facteurs "parasite" ont été identifiés pour expliquer le mauvais rendement du cycle sporogonique.

3-4-2-1- Gamétocytémie

Au sein d'une population d'individus naturellement infectés par *P. falciparum*, le seuil de densité gamétocytaire capable de provoquer une infection chez le moustique est relativement faible (Boudin *et al.*, 1989). Dans la majorité des cas, il a été démontré qu'une gamétocytémie de 100 gamétocytes/ μ l de sang était suffisante pour provoquer une infection naturelle chez le moustique. La proportion de cas d'infections chez le moustique augmente avec la gamétocytémie et est à son maximum lorsque la gamétocytémie atteint 1000 gamétocytes/ μ l de sang (Jeffery *and* Eyles, 1955).

3-4-2-2- Le sex ratio des gamétocytes

En 1935, Boyd *et al.* démontrèrent que les plus faibles densités de gamétocytes mâles étaient plus infectieuses que les plus fortes alors que d'autres n'ont pu démontrer cet effet du sexe-ratio sur l'infectivité des gamétocytes (Boudin *et al.*, 1989; Read *et al.*, 1992; Noden *et al.*, 1994).

3-4-2-3- L'âge des gamétocytes

L'âge influence également le succès de l'infectivité pour les moustiques. Les jeunes gamétocytes de stade V sont peu (ou pas) infectants. Il existe un délai de maturation infectante. *In vitro*, seules les cultures synchrones de gamétocytes morphologiquement matures depuis 4-9 jours ont la capacité d'infecter des moustiques, et présentent un maximum d'infectivité sur deux jours consécutifs (Lensen *et al.*, 1999). On sait aussi que les gamétocytes présents dans la circulation périphérique depuis plus d'une semaine présentent une infectivité réduite qui n'est pas due à la chute progressive de la densité gamétocytaire (Hogh *et al.*, 1998). Il est donc clair qu'il existe une période d'infectivité maximale pour les gamétocytes, ni trop jeunes ni trop vieux.

3-4-2-4- Maturité et qualité des gamétocytes

La qualité du gamétocyte peut être évaluée à partir de sa morphologie et de sa capacité à se transformer en gamétocyte mâle ou femelle. Les gamétocytes de *P. falciparum* possèdent

différentes caractéristiques morphologiques permettant de les identifier comme formes immatures ou aberrantes. Les formes matures sont en forme de croissant avec des bouts arrondis alors que les aberrants ont une forme en croissant mais des bouts pointus. Un autre critère de maturité est la distribution du pigment dans le cytoplasme. Les gamétocytes matures et fonctionnels ont un pigment localisé autour du noyau alors que chez les aberrants, il est localisé en bouquet sur un pôle de la cellule. La maturité des gamétocytes se caractérise aussi par leur capacité d'activation et d'exflagellation.

3-4-2-5- Une forte parasitémie asexuée

Une très forte parasitémie réduit parfois l'infectivité des gamétocytes. Le mécanisme est inconnu. Il pourrait s'agir du rôle inhibiteur sur l'infectivité de certaines cytokines, comme le TNF par exemple (Lensen et *al.*, 1997 ; Naotune et *al.*, 1993), abondamment secrétées lors des poussées parasitaires asexuées. Mais ce phénomène n'existe que rarement dans les infections à *P. falciparum*, du fait du retard de maturation des gamétocytes par rapport à la poussée asexuée qui leur a donné naissance.

3-4-3- Facteurs liés aux moustiques

Lors de son développement chez le moustique, le *Plasmodium* se heurte à un certain nombre de barrières physiologiques comme la matrice péritrophique, l'épithélium stomacal, la coque de l'oocyste, l'épithélium des glandes salivaires. Il subit aussi l'agression des enzymes dans l'estomac et des mécanismes de défense du moustique lors de son passage dans l'hémolymph. Tous ces facteurs inhibiteurs conditionnent la sensibilité du moustique au parasite.

3-4-3-1- Les enzymes de la digestion

L'ingestion d'un repas sanguin déclenche chez le moustique une sécrétion enzymatique protéolytique abondante (Billingsley et *al.*, 1991). L'activité enzymatique digestive atteint son apogée à des moments variables après l'ingestion du repas sanguin qui dépendent de l'espèce de moustique en cause. Ces enzymes digestives peuvent détruire le parasite. L'ookinète semble plus résistant aux enzymes que les stades précédents (Gass and Yeates, 1979 ; Kumar and Carter, 1985). Il doit probablement mettre en jeu des mécanismes de protection qui sont encore inconnus. Le développement de l'ookinète, contemporain du pic de sécrétion enzymatique ou de la formation d'une matrice péritrophique étanche, doit vraisemblablement avorter ou être fortement inhibé. Inversement, un développement de

l'ookinète avant le pic de sécrétion enzymatique ou avant la formation complète de la matrice péritrophique permet l'évolution du parasite vers les stades ultérieurs. Le rôle des enzymes digestifs du moustique peut ainsi être facilitateur ou inhibiteur de l'infectivité du parasite selon la période du développement sporogonique à laquelle ils sont sécrétés et selon le rôle concomitant de la matrice péritrophique.

Un autre rôle serait dévolu aux enzymes digestives. Elles activeraient la prochitinase sécrétée par l'ookinète sous forme inactive, au moins chez *P. gallinaceum* (Huber et al. 1991 ; Shahabuddin et al. 1993, 1996), favorisant ainsi la traversée de la matrice péritrophique. Mais un tel mécanisme a été récemment mis en question (Langer et al. 2001). Enfin, les enzymes digestives du moustique détruiraient les facteurs du complément, pouvant ainsi empêcher la destruction des zygotes (Grotendorst and Carter, 1987).

3-4-3-2- La matrice péritrophique

La majorité des moustiques produisent une sorte d'enveloppe, de structure lamellaire, enserrant le bol alimentaire. Un stimulus de cette sécrétion serait la distension stomacale, mais il doit être associé à la présence de composés sanguins puisque l'absorption de sérum ou de jus sucré n'entraîne pas la formation de MP (Richards A.G and Richards, 1977 ; Billingsley and Rudin, 1992). Elle est sécrétée par les cellules de l'épithélium stomacal et entoure tout le bol alimentaire en quelques heures. La nature chimique et la cinétique de sécrétion de la MP dépendent de l'espèce du moustique.

On comprend qu'il faille au parasite un équipement enzymatique spécifique pour passer cette première barrière physiologique quand la mise en place de la MP est précoce. C'est le cas dans le couple *P. gallinaceum/An. aegypti*. Par contre, chez les couples *An. Stephensi /P. falciparum* ou *An. atroparvus / P. berghei*, la MP est d'apparition plus tardive et ne gêne pratiquement pas la migration de l'ookinète. D'autres études ont concerné des couples parasites-moustiques réfractaires ou sensibles, en présence ou après inhibition de la synthèse de la matrice chez le moustique, pour apprécier le rôle de celle-ci sur l'infectivité (Shahabuddin et al., 1993 ; Billingsley and Rudin, 1992) ; il en ressort qu'il n'existe pas d'argument formel sur le rôle limitant de la MP sur l'infectivité des *Plasmodia*.

3-4-3-3- L'encapsulation mélanique dans l'hémolymphe

C'est le premier mécanisme de résistance du moustique au *Plasmodium* à avoir été réellement caractérisé du point de vue génétique et physiologique. Cette résistance se

manifeste par la production d'une capsule de mélanine autour des ookinètes du parasite lorsque ceux-ci émergent sur la face basale des cellules épithéliales de l'estomac de l'insecte entre 16 et 24 heures après le repas sanguin (Collins et al. 1986). Les hémocytes du moustique ne sont pas impliqués dans le processus d'encapsulation, indiquant que le mécanisme est de type humoral (Paskewitz et al. 1988).

3-4-3-4- La lyse intracellulaire des ookinètes dans l'épithélium de l'estomac

La lyse des ookinètes du parasite se fait peu de temps après l'invasion des cellules de l'épithélium de l'estomac du moustique. Ce mécanisme de lyse intracellulaire se distingue du mécanisme d'encapsulation décrit ci-dessus de plusieurs manières. Les ookinètes détruits par ce mécanisme ne sont pas mélanisés, mais présentent une dégénérescence rapide des organites cellulaires et une nécrose apparente (Vernick et al. 1995) tandis que les parasites déjà encapsulés gardent une apparence ultra-structurale normale jusqu'au moment où ils commencent à dégénérer (Collins et al. 1986).

3-4-3-5- Les paramètres biologiques du moustique

La taille des moustiques est importante en ce sens que les plus gros ingèrent d'avantage de sang à chaque repas (Lyimo and Koella, 1992). Il s'ensuit qu'une "grosse" espèce comme *An. gambiae* présente ordinairement un indice sporozoïtique supérieur dans la nature à celui d'une "petite" comme *An. nili* par exemple (Robert et al. 1998). Entre les individus d'une même espèce, la variabilité du volume sanguin ingéré est probablement un facteur important de l'infection chez le moustique. Or, très peu d'études se sont penchées sur ce problème : la moyenne de sang ingéré par un lot de moustique a bien été rapportée (Clements, 1992) mais, à notre connaissance, la distribution des valeurs n'a pas été publiée.

L'âge du moustique est important, puisque le premier repas de sang est celui où le moustique s'infecte le plus facilement, probablement parce qu'un repas de sang accélère la vitesse de digestion du repas suivant (Vaughan et al. 1994). Un âge trop avancé du moustique lors de la prise d'un repas de sang infectant est défavorable à l'achèvement du développement sporogonique, à cause d'une survie amoindrie de l'anophèle (Boudin et al., 1989).

La nutrition du moustique femelle est également un facteur important sous l'angle de l'alternative entre un repas de jus sucré ou un repas de sang. Après un repas de sang infectant, un repas de jus sucré est préférable à un repas de sang pour une infectivité supérieure du moustique (Kelly and Edman, 1997). Par ailleurs, les moustiques qui prennent

exceptionnellement des repas de jus sucré ont un développement gonotrophique court. Ceci est peut-être lié à l'exigence d'un apport nutritif important exigé par certaines espèces de moustiques et plus aisément procuré par le repas de sang. Même si un repas de jus sucré est disponible dans l'environnement, ces espèces recherchaient plutôt un repas de sang, et telle qu'*An. gambiae* par exemple, ont donc une fréquence de piqûres élevée et sont plus fréquemment en contact avec un homme infectant (Beier, 1996 ; Gary and Foster, 2001).

3-4-4- Facteurs environnementaux

Les facteurs climatiques influencent considérablement la répartition géographique et l'épidémiologie du paludisme. Ils interviennent sur la transmission par trois mécanismes partiellement liés.

3-4-4- 1- Le climat

Le climat a une influence sur : (i) la répartition et l'abondance des anophèles vecteurs, (ii) la possibilité et le succès du développement sporogonique du parasite à l'intérieur du vecteur, (iii) la modulation du contact homme-vecteur.

3-4-4- 2- La température

Elle influence la durée du développement sporogonique du parasite, la durée du développement pré-imaginal du vecteur et la survie de l'anophèle adulte. Au-delà de 35 °C et en deçà de 18°C, le développement sporogonique de *P. falciparum* est stoppé ; aux températures de 20°, 24° et 30° C, il est respectivement de 20, 11 et 9 jours. L'espèce *P. vivax* supporte des températures plus modérées, jusqu'à 15°C, et aux températures de 20°, 24° et 30°C, le développement sporogonique est respectivement de 16 ; 9 et 7 jours.

3-4-4- 3- L'humidité

L'humidité influence la survie des moustiques adultes, et par là même le succès du développement sporogonique. Cette humidité doit être relativement élevée pour une survie optimale (l'humidité relative conseillée est de 70 à 80% en insectarium).

3-5- Les méthodes de lutte contre le paludisme

La lutte contre le paludisme est axée sur trois volets : la lutte antivectorielle, la lutte contre le parasite (chimiothérapie et chimioprophylaxie), et le développement de stratégies vaccinales.

3-5-1- La lutte anti vectorielle

Cette lutte repose sur la rupture ou la réduction du contact homme vecteur. Différentes méthodes de lutte sont applicables contre les larves, et ou contre les adultes.

3-5-1-1- La lutte anti-larvaire

La lutte anti-larvaire s'effectue au niveau des gîtes, elle consiste à la destruction des larves avant qu'elles ne deviennent adultes. Cette lutte peut être: biologique, physique et chimique.

3-5-1-1-1- La lutte biologique

Cette lutte s'effectue au niveau des gîtes et consiste à détruire les larves avant qu'elles ne deviennent des adultes capables de transmettre la maladie.

L'exemple le plus connu est celui des poissons larvivores, qui se nourrissent de larves de moustiques. Parmi les principales espèces à avoir été introduites avec succès dans différents pays, il y a le «top minnow» ou poisson à moustiques (*Gambusia affinis*) et le «guppy» (*Poecilia reticulata*). *Gambusia*, est plus efficace dans les eaux claires, tandis que *Poecilia* est utilisé avec succès dans les eaux polluées de matières organiques. *Poecilia* supporte des températures plus élevées que *Gambusia* et convient donc mieux dans les rizières des pays chauds. Cependant, à l'inverse de *Gambusia*, il ne peut survivre à des températures inférieures à 10°C (OMS, 2003).

Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) est un autre exemple de méthode de lutte biologique. C'est une bactérie qui produit des toxines très actives contre les larves par Ingestion. A dose normale, elle est sans danger pour l'homme, les autres insectes, les poissons et animaux supérieurs. Elle peut être utilisée dans les eaux d'irrigation des cultures vivrières et dans les eaux de boisson. Le Bti a le désavantage de n'être active que par ingestion, puis sa densité l'entraîne au fond alors que les larves d'anophèle se nourrissent en surface. Elle se détruit très rapidement dans le milieu naturel et doit donc être réappliquée périodiquement (OMS, 2003).

3-5-1-1-2- La lutte physique

C'est une modification intentionnelle du biotope, qui vise à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent (PNEP Tunisie) [<http://www.malaria.tun> juin2009]. On distingue :

Le drainage qui consiste à faire évacuer les eaux du gîte à l'aide d'un drain vers un milieu récepteur naturel (tel qu'un cours d'eau, un terrain perméable etc...). Il a l'avantage d'évacuer rapidement les eaux et d'entraîner œufs et larves vers des milieux défavorables à leur développement où leur destruction rapide est assurée. Mais la disponibilité d'un milieu récepteur naturel situé à une distance raisonnable du gîte peut constituer un facteur limitant de cette méthode.

La mise en boîte consiste à concentrer les eaux dans les tranchées, et par conséquent réduire la superficie du gîte à empoissonner. Cette méthode est utilisée dans le cas de gîtes importants situés loin d'un milieu récepteur naturel. Cette mise en tranchée, nécessite la connaissance du volume d'eau dans le gîte.

Le captage des résurgences : ces résurgences proviennent de nappes artésiennes ou nappes captives. Pour éliminer ces résurgences on peut utiliser soit : (i) le pompage à l'aide d'une pompe à moteur ; (ii) l'installation d'une pompe éolienne ; (iii) l'aménagement en puits ; (iv) le drainage vers un milieu récepteur naturel. Ces solutions sont fonction du débit de la source et, de la permanence de celle-ci.

Le comblement : certains gîtes peuvent être éliminés à l'aide de matériaux (pierres, débris de construction). Cette méthode est surtout utilisée pour des gîtes de petite superficie, et de profondeur moyenne. Ces matériaux devront souvent être transportés sur de longues distances, et nécessitent d'être compactés, ce qui élève le coût du comblement.

A part la solution de comblement, toutes les autres nécessitent souvent un travail d'entretien (désherbage, curage, mise à bord franc, etc...). D'une façon générale, les travaux de génie sanitaire peuvent être améliorés par un reboisement au niveau des surfaces assainies.

Le boisement : il est bénéfique et rentable de prévoir la plantation d'arbres, comme l'eucalyptus ou autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau faible débit mais d'écoulement continu [http://lozere.org/perso/malaria/Lutte_antilarvaire.htm Sept2008].

3-5-1-1-3- La lutte chimique

Il s'agit de répartir, uniformément et périodiquement, une certaine quantité de pesticide sur la surface de l'eau qui abrite les gîtes larvaires et d'exposer ainsi les larves à des substances naturelles ou de synthèse qui provoquent la mort des arthropodes par empoisonnement.

Les insecticides organophosphorés sont les plus utilisés en dépit de leur niveau de résistance en augmentation dans certaines régions.

Le Temephos qui a une très faible toxicité pour les mammifères a été le larvicide le plus utilisé dans le monde (OMS, 2003). Il peut être mis dans l'eau d'irrigation et a aussi été utilisé pour traiter les eaux de boisson. Il est cependant toxique pour les poissons.

Le Fenthion est aussi communément utilisé à condition de ne pas contaminer l'eau de boisson et les aliments (OMS, 2003).

3-5-1-2- La lutte anti-adulte

Différentes méthodes sont utilisées pour lutter contre les moustiques adultes et ou limiter le contact Homme-vecteur [<http://www.guyane-guide.com> 2005]. Il s'agit :

- des grillages fins imprégnés d'insecticide aux fenêtres et s'assurer régulièrement qu'il n'y a aucun trou. Les bouches d'aération et de ventilation doivent aussi être grillagées. La climatisation est très efficace car le froid ralentit l'activité et la reproduction des insectes ;
- des diffuseurs électriques qui protègent la chambre pendant 45 nuits (8 à 10 heures par nuit) en diffusant régulièrement un insecticide inoffensif ;
- des spirales insecticides à combustion lente assurent également une bonne protection périodique et tuent les insectes. Elles peuvent être utilisées sous une véranda ou dans une pièce aérée. Elles protègent pendant 6 à 8 heures ;
- de moustiquaires chimiquement imprégnées qui est une des protections les plus efficaces contre les moustiques, aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des maisons. Pour un maximum de protection, ces moustiquaires doivent être en bon état, maintenue attachées dans la journée et rabattre les bords sous le matelas au couché. L'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide réduit considérablement le

risque de transmission du paludisme dans une région où le paludisme est endémique. C'est l'idéal pour protéger les jeunes enfants et les femmes enceintes qui ne peuvent pas toujours utiliser les autres mesures contre le paludisme.

- utiliser les bombes insecticides (spray) qui offrent une protection de courte durée, juste quelques minutes après leur pulvérisation. Ils restent utiles, avant d'entrer dans une pièce, ou avant d'aller dormir pour tuer tout insecte ayant pu pénétrer.

3-5-1-3- Lutte génétique

Elle est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement (Tabachnick, 2003 et Fontenille, 2005).

3-5-2- La lutte contre le parasite

Elle repose sur l'utilisation des substances antipaludiques (schizonticides et gamétocides) qui sont actives contre les différents stades sanguins du parasite.

3-5-2-1- Traitement des accès palustres simples

Les schizonticides tissulaires qui ont une activité sur les formes pré érythrocytaires du *Plasmodium* peuvent aussi être utilisés pour prévenir la rechute dans certaines infections à *P. ovale* ou *vivax* qui présentent des formes hypnozoïtes.

- **Les schizonticides** utilisés pour les stades sanguins du *Plasmodium* sont recommandés pour le traitement aussi bien symptomatique qu'asymptomatique. Ce type de médicament est le plus utilisé dans le traitement du paludisme. Ces chimiothérapies sont réparties en plusieurs classes en fonction de leur composition chimique : les aminoalcools (quinine, méfloquine, halofantrine, luméfhantrine), les sesquiterpènes (artémisinine), les antimétabolites antifolique (sulfadoxine et sulfone) et les antimétabolites antifoliniques (proguanil et pyréméthamine).
- **Les gamétocides** détruisent les formes sexuées du *Plasmodium*; ils ont la possibilité d'agir aussi bien sur les formes sexuées portées par l'homme mais également sur celles qui sont ingérées par les Anophèles lors du repas sanguin. Ce type de molécule a donc un effet sur la transmission du paludisme. Généralement, nous retrouvons dans cette catégorie les Amino-8-quinoléines : primaquine, tafénoquine.

3-5-2-2- Traitement des accès palustres graves

La quinine demeure l'antipaludique de référence en cas d'accès grave du paludisme à *P. falciparum*. Elle est utilisée aussi bien pour les enfants que pour les adultes. Néanmoins, elle doit être utilisée avec beaucoup de précaution car elle peut entraîner de graves troubles cardiaques qui peuvent être fatals.

3-5-2-3- Utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine

Les parasites résistent de plus en plus aux médicaments antipaludiques les plus usuels comme la chloroquine ou l'association sulfadoxine-pyriméthamine (SP) (Kouriba, 1993).

Cette situation est à l'origine de nouvelles stratégies de traitement basées essentiellement sur des combinaisons de différentes molécules. La combinaison la plus usitée est à base d'artémisinine d'où l'appellation d'Artemesinine-based Combination Therapie (ACT). L'OMS recommande l'emploi de quatre associations à base d'artémisinine : Artémether-Luméfántrine (Co-Artem®), Artésunate-Méfloquine, Artésunate-Amodiaquine, Artésunate-sulfadoxine/ pyriméthamine.

L'avantage de ces ACT réside dans le fait qu'elles sont très efficaces et contribuent à faire baisser l'incidence palustre mais surtout, comme dans le cas du traitement du VIH par la trithérapie, ces associations retardent la vitesse d'apparition des résistances du *Plasmodium* (White, 1999a ; 1999b).

Ces ACT se révèlent non seulement idéales pour le traitement des cas simples de paludisme par leur capacité à induire rapidement la clearance parasitaire, mais, elles ont également un effet direct sur la viabilité des gamétocytes et donc sur la transmission et la propagation de l'infection palustre. Les études comparatives de (Target et *al.*, 2001) ont montré une baisse de la transmission des gamétocytes aux moustiques au sein d'une population d'enfants traités avec un dérivé d'artémisinine comparativement à une autre traitée avec du sulfadoxine-pyriméthamine (SP). Un autre effet bénéfique de cette association est d'empêcher une baisse d'efficacité des autres molécules qui étaient utilisées seules. En Thaïlande, l'emploi de la combinaison artésunate-méfloquine depuis 1994 comme traitement standard des accès simples a permis non seulement de lutter de façon efficace contre les parasites mais aussi de maintenir l'efficacité de la méfloquine vis à vis du *Plasmodium*

(Nosten et al.1998). Toutefois certains facteurs peuvent constituer un frein à la distribution de ces ACT; comme par exemple, le prix qui est un critère tout a fait rédhibitoire. En effet, certaines combinaisons coûtent jusqu'à 20 fois plus que les antipaludiques conventionnels. L'observance du traitement qui est un problème général peut aussi compromettre l'efficacité des ACT.

3-5-3- Mise au point d'un vaccin antipaludique

Au vu de l'augmentation inquiétante de la résistance aux insecticides et de la résistance des parasites à la plupart des antipaludéens, le développement d'un vaccin reste une voie de recherche majeure. Différents essais de vaccinations sont conduits dans plusieurs laboratoires spécialisés. La recherche de vaccins antipaludiques repose sur l'identification et la production d'antigène qui déclenche une réponse immunitaire protectrice chez l'homme.

Les antigènes cibles apparaissent à des niveaux différents du cycle parasitaire. Pour les antigènes donnant une immunité de blocage de la transmission, la réponse immunitaire sera une suppression de la phase sexuelle du parasite et de la sporogonie.

La rationalisation des vaccins de blocage de la transmission réside dans l'espérance que de tels vaccins : (i) réduiront la transmission du paludisme ; (ii) en combinaison avec ceux dirigés contre les sporozoïtes et le stade asexuel sanguin au moins sous certaines conditions épidémiologiques, préviendront la propagation de tous les parasites mutants résistants aux autres vaccins (Boudin *and* Robert, 2002).

Ces recherches sont difficiles et, à plusieurs reprises, des résultats préliminaires, qui semblaient prometteurs, n'ont pas été confirmés. On peut envisager de disposer un jour d'un ou plusieurs vaccins contre le paludisme.

3-6- Généralités sur l'infestation expérimentale

3-6-1- Définition

C'est une technique qui consiste à gorger des femelles néonates avec du sang d'un sujet porteur de gamétocytes. Il existe deux méthodes d'infestation : une dite «directe» et l'autre «indirecte».

3-6-2- Historique

En 1957, Muirheard-Thomson 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. Cette étude lui a permis de grouper les porteurs de gamétocytes par tranches d'âge en fonction de leur infectivité pour les moustiques.

En 1988 Graves et *al.*, ont publié les résultats des études d'infectivité basées sur l'infection directe. La technique fut utilisée aussi par Mendis et *al.*, en 1990 pour caractériser la transmission du paludisme à Kataragama au Sri-Lanka.

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 cherchant les facteurs influents (Mulder et *al.*, 1993).

3-6-3- 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.

3-6-4- 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.

3-6-5- 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.

3-6-6- Infectivité des porteurs de gamétocytes pour le moustique

Seuls les porteurs de gamétocytes matures de *P. falciparum* sont infectants pour les anophèles. Cependant, tout porteur de gamétocytes n'est pas nécessairement infectant. Ceci s'explique par de nombreuses considérations sur les facteurs limitant le développement sporogonique, exposées ci-après, et qui sont groupés en facteurs "moustique", facteurs "parasite" et facteurs humains. En pratique, il faut envisager :

- le rôle inhibiteur de l'immunité naturelle bloquant la transmission chez certains porteurs ;
- l'absence d'infectivité des gamétocytes de stade V encore trop jeunes ;
- un mauvais rendement du développement gamétoocyte oocyste ;
- le traitement préalable du porteur de gamétocytes par un sporonticide (comme sulfadoxine + pyriméthamine) ;
- un grand déséquilibre du sex-ratio des gamètes.

Inversement, il est possible d'observer des sujets infectant les moustiques malgré un test négatif pour le dépistage des gamétocytes en goutte épaisse. Plusieurs explications sont possibles :

- la densité gamétoocytaire est en dessous du seuil de détection du test ; la détection des gamétocytes peut alors être améliorée en faisant sécher rapidement la goutte épaisse, par exemple dans un four à micro-ondes (Le Goff *et al.*, 1998) ou bien en utilisant la méthode QBC (Mulder *et al.*, 1998 ; Verhave *et al.*, 1995) ou une technique PCR, le QT-NASBA (Day *et al.*, 1998 ; Niederwieser *et al.*, 2000) ;
- la présence de gamétocytes dans le derme, ou dans le compartiment lymphatique (Chardome *and* Janssen, 1952 ; Van Den Berghe ,1952);
- la non-équivalence entre la densité gamétoocytaire mesurée dans le sang capillaire et la densité ingérée par le moustique, notamment à cause d'une grande variabilité du volume sanguin ingéré par chaque moustique, ou du fait d'une agrégation des gamétocytes circulants (Pichon *et al.*, 2000) ;
- une dernière hypothèse pourrait être le décollement des gamétocytes durant la coloration de la goutte épaisse non fixée, comme cela a été observé pour les trophozoïtes de *P. falciparum* (Brooke *and* Donaldson, 1948 ; Dowling *and* Shute, 1966).

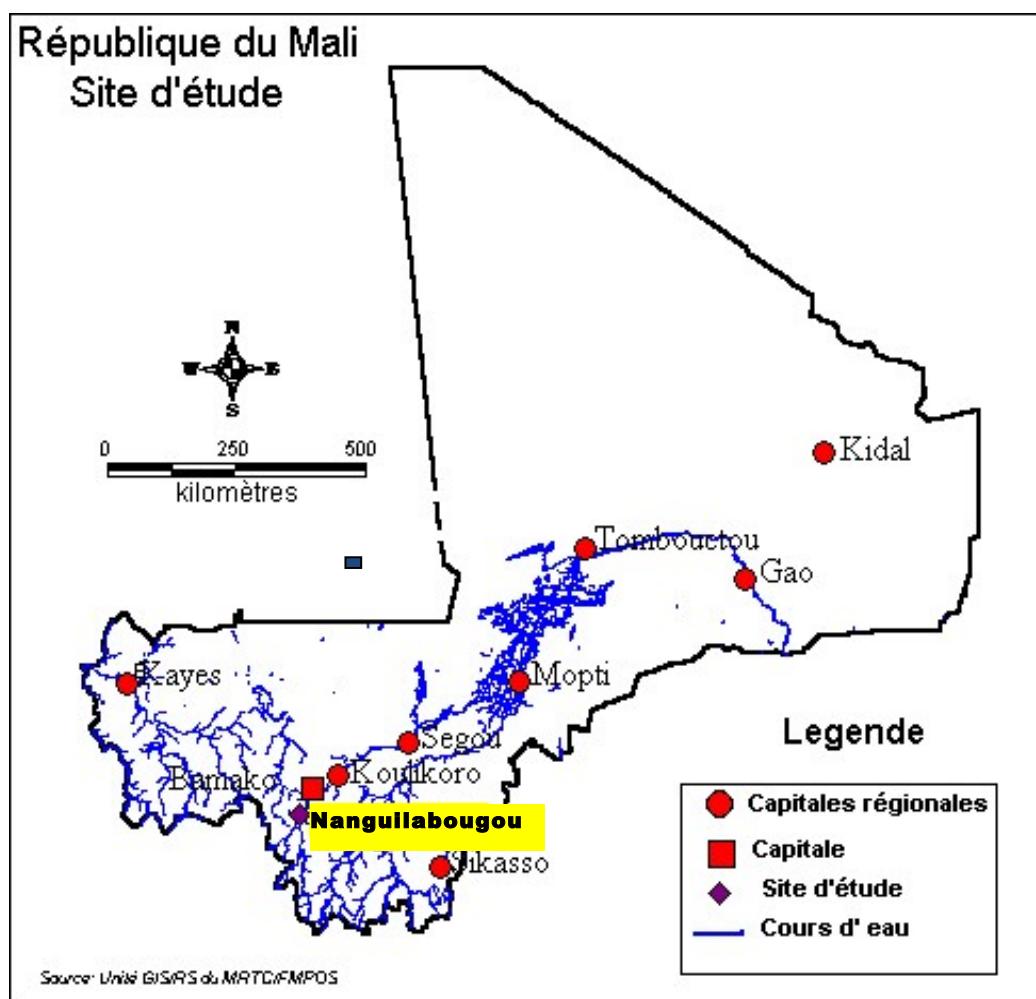
Ainsi seuls quelques-uns de ces facteurs peuvent être exploités du point de vue épidémiologique à savoir : la prévalence et la densité gamétoocytaire. Ceci pourrait être dû à l'existence d'une probable corrélation entre la charge gamétoocytaire et l'infectivité du porteur

pour le moustique (Ashida *and* Brey, 1998). Actuellement, ils restent les seuls paramètres utilisés sur le terrain.

METHODOLOGIE

Le village de Nanguilabougou est situé à 63 km au Sud-Ouest de Bamako sur la rive gauche du fleuve Niger. Il s'étend le long de la route reliant Bamako à Kankan (en Guinée), limité au Nord-Est par le village de Bancoumana, à l'Est par le fleuve Niger, à l'Ouest par le village de Kouroubougou, au Sud-Ouest par le village de Nianganabougou, le village est accessible en toute saison.

Dans cette zone, le paludisme y est hyper-endémique et sa transmission est intense pendant la saison des pluies. Le village est à trois kilomètres du fleuve Niger.



Source: GIS (MRTC) Bamako

Figure 7 : Carte du Mali indiquant le site d'étude (Nanguilabougou)

4-1-1- Population

La population de Nanguilabougou est estimée à 628 personnes, composée essentiellement de Malinké (98% de la population) avec 293 adultes et 335 enfants (Recensement du Village de Nanguilabougou, MRTC 2008). Cette population tend vers le cosmopolisme avec l'immigration des Bambara, des Peulhs et des Dogons.

4-1-2- Historique

La création du village remonterait au 18^{ème} siècle quand les fondateurs vinrent occuper l'actuel site quittant leur village d'origine qui se trouvait sous l'occupation des troupes de Alamy Samory TOURE. Pour les mêmes raisons socioculturelles, le village a décidé de taire sur le nom des premiers chefs.

4-1-3- Relief et hydrographie

❖ Relief :

Les grandes unités de paysage du terroir de Nanguilabougou se composent de :

- **Glacis d'érosion** : située au Nord du village, s'étend dans la plaine alluviale en bande longitudinale de direction Ouest-Est. sa superficie est de 144 ha. Elle est caractérisée par des sols gravillonnaires peu profonds avec souvent de faibles recouvrement de sols hydromorphes de texture limono-argileuse.
- **Plaine alluviale** : s'étend sur une superficie de 944 ha, elle occupe tout le centre du terroir hormis la bande gravillonnaire. Elle est caractérisée par des sols limino-argilo-sableuses qui sont très fertiles.
- **Bas-fond** : occupent les parties extrêmes Nord et Sud du village. Elle est exploitée pour le maraichage et la riziculture. Sa superficie est de 528 ha.
- **Bourrelet de berge** : occupe une surface de 112 ha, borde les eaux du fleuve Niger. Elle sert de passage opposé au fleuve et est exploitée pour la culture du sorgho, du gombo et du maïs.

❖ Hydrographie :

Les deux principaux cours d'eau arrosant le village de Nanguilabougou sont le « koba » coulant à la limite Nord du village et le « fleuve Niger » limitant le village au Sud. Ces deux cours d'eau sont d'une importance capitale pour l'économie du village. Ils sont utilisés surtout pour le maraichage, la pêche et l'abreuvement des animaux.

En plus de ces deux cours d'eau, il existe trois mares (Somadji, Missilami dalani et Farateba dalani) toutes situées au Sud du village. Elles servent de pêche et d'abreuvement des animaux.

4-1-4- Climat et végétation

❖ Climat

Nanguilabougou jouit d'un climat de type soudanien. Il existe deux saisons : l'hivernage qui s'étend de Juin à Octobre et la saison sèche de Novembre à Mai. La pluviométrie annuelle varie de 800 à 1200 mm. La température est très variable au cours de l'année dont la plus

basse (18°C) est observée au mois de Janvier et la plus forte au mois de Mai (38°C). Les vents dominants sont:

- La mousson qui apporte la pluie, souffle de l'Est à l'Ouest ; elle est violente en début et en fin d'hivernage ;
- L'harmattan souffle du nord-est au sud-ouest. Il sèche les cours d'eau, jaunit les feuilles des arbres et provoque la chaleur.

❖ Végétation

La végétation est constituée d'une forêt claire. Elle est de type savane herbeuse avec quelques galeries forestières le long du fleuve Niger et de son affluent. On y rencontre de grands arbres tels que : le karité (N.S : *Vittelaria paradoxa* ; N.V : Sii en Bambara), le néré (N.S : *Parkia biglobosa*) ; le tamarinier (N.S : *Tamarindus indica*) ; le toro (N.S : *Ficus gnaphalocarpa*), les genres *Combretum*, *Guiera* (N.V : Ngoudiè en Bambara) et des arbustes recouvrant une strate herbacée.

4-1-5- Economie

Les principales activités économiques pratiquées sont l'agriculture, l'élevage, la pêche. A la fin de la saison de pluies, la population effectue des activités génératrices de revenus telles que : le maraichage, la pêche, petits commerces (arachides, beurre de karité etc. ...). L'agriculture est basée sur les cultures vivrières (mil, sorgho, riz, maïs, arachides et haricot) ; les cultures maraîchères (tomates, oignons, aubergines, salades, choux et pastèque) ; ainsi que les cultures de plantation (manguier, bananier, oranger, citronnier, manioc et papayer).

Les populations pratiquent l'élevage de bovins, d'ovins (moutons), de caprins (chèvres), d'équins (ânes), et de volaille (poules et pintades). La pêche pratiquée dans le fleuve est appréciée par la présence de poissons de diverses variétés. L'artisanat est essentiellement basé sur la forge, la confection de cordes, de filets pour la pêche etc...

4-1-6- Organisation administrative

Le chef du village est nommé au sein du lignage « *DOUMBIA* » fondateur du village et suivant la lignée patrilinéaire. Le chef de village est appelé à assurer la cohésion sociale à travers la gestion des conflits sociaux de façon impartiale. Il est assisté par quatre (4)

conseillers nommés à l'issue d'une assemblée villageoise en fonction de leurs valeurs intrinsèques. Les conseillers servent en outre de courroie de transmission entre l'administration et le village à travers la couverture des impôts et taxes.

4-1-7- Infrastructure scolaire et socio-sanitaire

Le village dispose d'une mosquée, d'un centre culturel réalisé par la *FONDEM* (Fondation-Energie-Monde), d'un centre d'alphabétisation réalisé par *AMAPROS* et d'une école fondamentale « premier cycle de cinq classe ». Le village ne dispose pas de centre de santé.

4-1-8- Habitats et coutumes

❖ Habitats :

Les différents types d'habitations rencontrés sont :

- les maisons traditionnelles rectangulaires en banco couvertes de terre sont les plus nombreuses,
- les maisons rectangulaires en banco couvertes de tôles,
- les cases rondes en banco coiffées d'une toiture en paille.

❖ Coutumes :

Dans ce village est essentiellement pratiqué la religion musulmane, les aliments les plus consommés sont : le riz, le têt à base de mil.

4-2- Justification du choix de Nanguilabougou

Cinq principales raisons justifient le choix de ce village comme site de notre étude :

- L'étroite relation entre le MRTC et le village de Nanguilabougou;
- Les études parasito-cliniques antérieures ont montré que la prévalence de l'infection palustre parmi les enfants de 0-10 ans est > 85% pendant la saison pluvieuse (Juin -Octobre) ;
- Les études entomologiques effectuées dans la zone de Bancoumana en 1994 ont montré que la transmission du paludisme est assurée par *An. gambiae s.s* et *An. arabiensis*;
- Le village de Nanguilabougou est exempt de pression médicamenteuse antipaludique;
- La situation du village à 63 km de Bamako, ce qui permet d'accéder au village au bout de deux (2) heures en toute saison de l'année.

4-3- Type et période d'étude

C'est une étude longitudinale avec des passages transversaux répétés. Ces passages étaient organisés deux fois par mois c'est-à-dire tous les quinze jours pour les séances d'infestations expérimentales. Elle s'est déroulée entre Septembre 2010 à Janvier 2011 avec sept passages transversaux.

4-4- Echantillonnage

❖ Porteurs de gamétocytes humains

L'étude a porté sur des enfants âgés de 4 à 12 ans car c'est la tranche d'âge la plus touchée par le paludisme et qui infeste mieux les moustiques (Touré. et *al*, 1998). Au cours de notre étude, la sélection des porteurs de gamétocytes a été faite par sélection rotative de cent enfants pris au hasard dans le village. Le dépistage de ces enfants pour le portage de gamétocytes s'effectuait jusqu'à l'obtention d'au moins quatre porteurs pour l'infestation expérimentale.

❖ Pour la population anophélienne

La forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s*. a été utilisée pour les séances d'infestation et environ 120 anophèles (âgés de 4-5 jours) étaient utilisés par séance soit 30 moustiques par porteur de gamétocytes.

4-5- Considération éthique

Le protocole d'étude a été soumis au comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali (FMPOS) avant sa réalisation sur le terrain.

Après l'acceptation du protocole, une rencontre a été organisée entre les représentants du laboratoire, les autorités locales du village pour expliquer les objectifs du travail afin d'avoir leur consentement.

Le travail a été exécuté après accord du comité d'éthique de la FMPOS et le consentement éclairé, écrit et signé de la communauté de Nanguilabougou représentée par le chef de village et un conseiller.

4-6- Sélection des porteurs de gamétocytes

4-6-1- Organisation du travail

4-6-1-1- Equipe parasito-clinique

Composée d'un biologiste, d'un médecin, d'un thésard et des guides chargés d'informer les familles des enfants à la veille du screening.

Pendant le passage, le travail était organisé comme suit :

- **Poste 1:** ou poste d'identification et de clinique : ce poste était composé d'un thésard aidé par les guides du village.

A chaque passage, un ticket comportant le nom, le prénom, l'âge, le sexe et le numéro d'identification (STDN) et les filiations (mères, chefs de familles) était remis aux enfants puis dirigés vers le poste 2. Les variables mesurées étaient la température, le poids corporel et la taille de la rate.

- **Poste 2:** ou poste de prélèvements et de lecture

Ce poste était constitué d'un thésard et d'un biologiste. Après l'identification de l'enfant, la goutte épaisse (GE) était effectuée. Les lames étaient séchées à l'air libre puis arrangées dans des boîtes à OMS. Elles étaient colorées 1-2 heures après leur confection puis la lecture était faite au microscope objectif 100 pour la détection des gamétocytes. La lecture était faite par rapport à 300 leucocytes et rapportés à 7500 leucocytes pour l'estimation de la parasitémie.

4-6-1-2- Equipe entomologique

Composée d'un technicien et deux thésards en Médecine qui dirigeaient les séances d'infestation au laboratoire.

4-6-2- Sélection des enfants de 4-12ans

Au cours de nos passages, cent enfants étaient sélectionnés de façon aléatoire dans les différentes familles. Seuls les enfants ayant une charge gamétocytaire plus élevée sur les cent enfants, étaient choisis pour l'infestation expérimentale (minimum quatre porteurs).

4-6-3- Dépistage

Il consistait à identifier les porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* dans la population d'enfants sélectionnés de 4 à 12 ans par la technique des gouttes épaisses.

A chaque passage, un ticket comportant le nom, le prénom, l'âge, le sexe et le numéro d'identification était remis aux enfants identifiés en fonction d'un numéro d'ordre. L'identité des parents ou tuteurs de chaque enfant est d'office connue. Le clinicien faisait l'examen physique des enfants (la palpation de la rate, la température corporelle et le poids de chaque enfant).

La splénomégalie était classée suivant la classification de **Hackett** décrit comme suit :

- **Rate 0** : Rate normale, non palpable
- **Rate I**: Rate palpable à l'inspiration profonde
- **Rate II**: Rate palpable sur la ligne mamelonnaire gauche, ne dépassant pas une ligne horizontale passant à égale distance entre le rebord costal et l'ombilic.
- **Rate III**: Rate dépassant cette ligne sans dépasser l'ombilic.
- **Rate IV**: Rate dépassant l'ombilic sans franchir l'horizontale passant à égale distance entre l'ombilic et la symphyse pubienne.
- **Rate V**: Rate dépassant cette ligne horizontale.

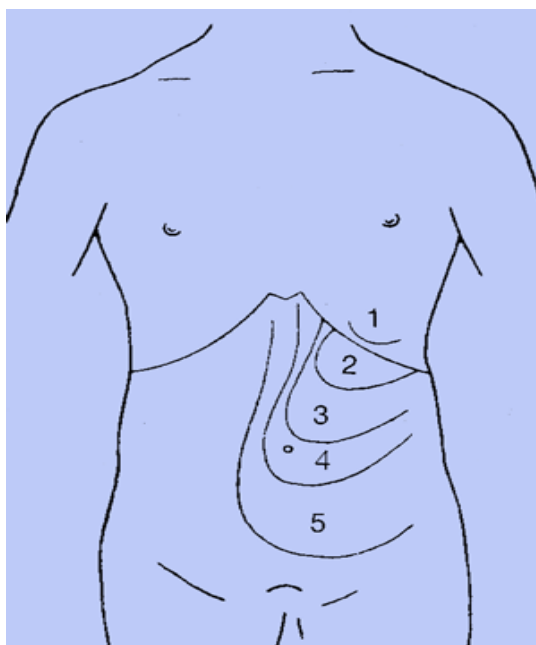


Figure 8: La classification de la splénomégalie de Hackett [<http://www.impact-malaria.com/juin2011>]

4-6-3-1- Prélèvement et mode opératoire de la GE

❖ **Matériel de prélèvement**

- Lames porte-objet
- Vaccinostyles stériles
- Coton hydrophile
- Alcool 90%
- Gants
- Bic, crayons et feutres
- Boîte de collection des lames
- Poubelles

❖ **Mode opératoire**

Nettoyer le bout du doigt (index ou majeur) avec un tampon d'alcool. Piquer à l'aide du vaccinostyle, essuyer la première goutte avec du coton sec. Déposer la seconde goutte sur la lame comportant le numéro d'identification et la date. Les lames sont séchées à l'air libre, à l'abri des mouches et de la poussière, puis arrangées dans une boîte de collection. (Voir photo).

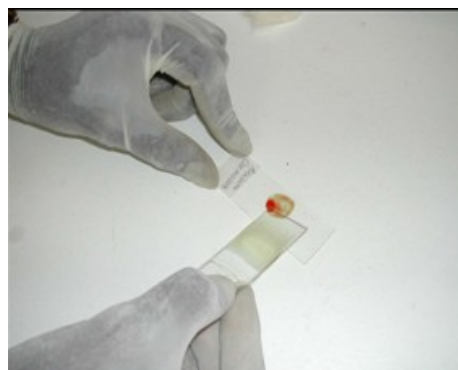


Figure 9 : Prélèvement par piqûre au doigt

Figure 10 : Confection d'une goutte épaisse

4-6-3-2- Coloration et lecture des lames

❖ **Matériels et réactifs de coloration des lames**

- Eau tamponnée (un comprimé tampon à pH 7,2 pour un litre d'eau désionisée).
- Bac de coloration
- Râtelier
- Gants
- Eprouvette graduée

❖ **Technique de coloration**

Placer les lames dos contre ventre dans le bac de coloration. Ajouter le Giemsa dilué à l'eau tamponnée à 5%. Attendre 45mn, puis rincer avec de l'eau et laisser les lames séchées sur le râtelier.

❖ **Lecture des lames**

Nous avons fait la lecture des lames en deux temps :

Le premier temps consistait à sélectionner des porteurs de gamétocytes sur le terrain :

La lecture de la GE consiste à identifier et à compter par champ microscopique les différents stades et espèces parasitaires sur 300 leucocytes. Choisir le sens de la lecture (horizontal, vertical) avant de commencer et éviter de revenir sur les mêmes champs microscopiques. Lire toute la lame au microscope à l'objectif (100) pour la détection des gamétocytes. Les porteurs sont classés en fonction des charges gamétocytiques (1+, 2+, 3+).

Le deuxième temps consistait à faire une relecture des lames sur 1000 leucocytes :

La parasitémie est déterminée suivant la méthode quantitative leucocytaire. Les parasites sont comptés en même temps que les leucocytes sur lames. Lorsque le nombre de 1000 leucocytes est atteint, le compte est arrêté et on rapporte la gamétocytémie correspondante au nombre de leucocytes dénombrés au Counter (NFS). La parasitémie exacte du sujet est alors obtenue par la formule suivante :

$$P = [(N \times \text{Nbre GB}) / 1000] \text{ par } \mu\text{l}$$

P = Parasitémie ; N = est le nombre de gamétocytes comptés au microscope sur 1000 leucocytes ; 1000 = nombre de leucocytes comptés au microscope ; Nbre GB = est nombre de leucocyte par μl de sang dénombré au Counter (NFS).

4-6-4- Convocation des porteurs de gamétocytes

Après la lecture des lames, les guides partaient chercher tous les enfants retenus pour l'infestation. Un prélèvement était effectué sur chacun des porteurs de gamétocytes pour le filtrage des gamétocytes et du sérum. Les enfants étaient ensuite conduits au laboratoire à Bamako, accompagnés d'un adulte (guide ou parent d'un des enfants) avec le consentement des parents.

Au laboratoire

Le parent qui accompagnait les enfants, était informé de toutes les procédures d'infestation expérimentale au laboratoire.

4-7- Elevage des moustiques au laboratoire

4-7-1- Collecte et élevage des larves d'*An. gambiae s.l*

La collecte des larves était faite par les internes aidés en cela par des guides formés par nos soins. Tous les gîtes potentiels étaient répertoriés et caractérisés en fonction du type de gîte (permanant ou temporaire) ; de la taille du gîte (diamètre, profondeur); de l'ensoleillement du gîte; de la couleur de l'eau du gîte; de la productivité du gîte en larves ; de la présence ou l'absence de végétation ou tout autre objet pouvant servir de support aux larves; de la présence ou l'absence de coléoptères et de notonectidés et le pH de l'eau du gîte.

Des larves étaient collectées au niveau d'un seul gîte trouvé productif en larves en utilisant la technique de "louché" (Voir photo). Les larves d'*An. gambiae s.l* ainsi collectées; étaient mises dans des plateaux en plastique, puis on procédait à leur élevage sur le terrain. Dès le stade nymphal, les nymphes étaient mises individuellement dans des tubes Falcon 50ml stériles et recouvertes de tuile moustiquaire. Après leur émergence, les adultes mâles et femelles étaient mis dans des cages différentes (exemple : Cage A → mâles et Cage B → femelles). Ces nouvelles émergences étaient bien conditionnées (jus sucré 5%, cage recouverte de serpière humide) puis identifiées au laboratoire pour l'établissement de la colonie M forme.



Figure 11 : Séance de collecte des larves d'*An. gambiae s.l* dans un gîte mixte.



Figure 12 : Tubes Falcon 50ml contenant les nymphes d'*An. gambiae s.l.*

Les moustiques sont bien conditionnés et gardés dans l'insectarium : chambre dans laquelle sont réunies certaines conditions nécessaires pour l'élevage des moustiques. Ils y sont maintenus à une température variant entre 26-28°C et une humidité relative comprise entre 70-80%. Pour simuler l'alternance jour et nuit, l'insectarium est illuminé 12 heures sur 24 (c'est-à-dire 12H jour et 12H nuit).

4-7-2- Technique d'identification des moustiques au laboratoire

Nous avons utilisé deux techniques d'identification (la PCR et la cytogénétique) en vue d'augmenter notre taille d'échantillon pour l'établissement de la colonie M forme. Deux lots de moustiques issus d'un gîte larvaire ont servi d'établir la colonie M forme :

- Le premier lot : les mâles et les femelles étaient séparés dès leur émergence pour l'identification à la PCR.
- Le deuxième lot : les nouvelles émergences de 4-5 jours étaient gorgées et mises en pontes individuelles pour l'identification cytogénétique (ovaires des semi gravides).

4-7-2-1- PCR (Polymerase chaine réactive)

La technique de Fanello *et al*, 2002 qui permet d'identifier l'espèce et la forme moléculaire d'*An. gambiae s.s* en même temps a été utilisée. (Voir Annexe).

4-7-2-2- Cytogénétique

La cytogénétique permet l'identification des formes chromosomiques du complexe d'*An. gambiae s.l* :

❖ Matériels

- Loupe binoculaire,
- Lames et lamelles,
- Pince à disséquer,
- Aiguille,
- Acide propionique 50%,
- Orcéine acéto-lactique (2g Orcéine poudre + 50ml Acide lactique + 50ml Acide acétique),
- Microscope.

❖ **Réalisation de préparations chromosomiques d'ovaires**

Les femelles gravides des moustiques issus du gîte larvaire sont mises en ponte individuelle ; puis elles sont gorgées et dès le stade semi-gravide, les préparations chromosomiques d'ovaires sont réalisées soit immédiatement à partir d'ovaires frais soit à partir d'ovaires ou les moustiques fixés au carnoy.

❖ **Mode opératoire**

- Placer les deux ovaires extraits sur une lame porte-objet,
- Ajouter quelques gouttes d'acide propionique à 50% pour les ramollir,
- Au bout de 3 à 4 minutes ajouter sur la préparation 1 à 2 gouttes d'orcéine acéto-lactique (colorant)
- Chasser le colorant 5 mn après avec l'acide propionique 50%,
- Amasser les ovaires au milieu de la lame dans une goutte d'acide propionique 50%,
- Recouvrir d'une lamelle, sur laquelle on tapera légèrement pour faire éclater les cellules nourricières des ovarioles contenant les chromosomes polyteïniques,
- Eliminer l'excès de liquide sortant de la préparation à l'aide d'un papier buvard,

- Faire pénétrer une petite quantité d'acide lactique dans la préparation par infiltration sous la lamelle. Ce qui permet d'éclaircir la préparation et d'éviter un dessèchement rapide.

❖ Identification chromosomique

Les préparations chromosomiques ainsi faites sont lisibles immédiatement ou même plusieurs mois après conservation au réfrigérateur.

La lecture se fait à l'aide d'un microscope muni d'objectifs à contraste de phase (x25 et x40) en s'aidant de la carte chromosomique établie par Coluzzi et *al.* 2002 (Voir Photo).



Figure 13: Photographie de chromosomes polytènes d'*An. gambiae s.s* (Cliché JP Agbor) ; (Thèse Caroline FOUET, 2010).

NB : les formes chromosomiques Mopti ainsi obtenues étaient confirmées par la biologie moléculaire (PCR) pour établir la colonie M forme d'*An. gambiae s.s*.

4-7-3- Etablissement de la colonie M forme d'*An. gambiae s.s*

Pour l'établissement de la colonie M, les nouvelles émergences étaient mises individuellement dans les tubes Falcon 50ml et numérotées suivant un ordre bien précis (Exemple : M1, M2, M3, ... M^x et F1, F2, F3, ...F^x) M= Mâle et F= Femelle.

Une patte de devant (patte antérieure) était coupée après anesthésie du moustique par le diéthyl éther (Voir Annexe : Technique d'anesthésie du moustique au diéthyl éther). Les pattes étaient ensuite mises dans des tubes PCR 0.2ml et numérotées suivant le même numéro

attribué au moustique (Exemple : tube N°1 → M1 ou F1 et tube N°n → Mⁿ ou Fⁿ). Du coton imbibé de jus sucré 5% était déposé sur les moustiques avant les résultats de la PCR. Tous les moustiques identifiés de mêmes formes sont mis ensemble dans la même cage. Les formes moléculaires M ainsi obtenue, constituaient notre colonie M Form. Ces moustiques sont gorgés deux jours après l'identification afin d'obtenir une quantité suffisante de moustiques pour les séances d'infestations expérimentales.

4-8- Procédure et méthode de l'infestation expérimentale

4-8-1- Critères d'inclusion et de non inclusion

❖ Critères d'inclusion

- Etre résident permanent de Nanguilabougou
- Etre bien portant et volontaire,
- Age ≥ 4 ans et ≤ 12 ans
- Ne pas être anémique (Hb ≥ 12 g/dl)
- Parent consentent
- Ne pas être sous traitement antipaludique
- Avoir une goutte épaisse positive en gamétocytes de *P. falciparum* à J0

❖ Critères de non inclusion

- Goutte épaisse négative en gamétocytes de *P. falciparum* à J0
- Volontaires physiquement défaillants.
- Age < 4 ans et > 12 ans.
- Individu ou parent non consentant
- Individu sous traitement antipaludique
- Hb ≤ 12 g/dl.

4-8-2- Principe et mode opératoire

❖ Matériels

- Un feeder-machine contenant de l'eau et muni d'un thermorégulateur ajusté à 37,5 °C ; pour maintenir le sang dans les conditions corporelles ;
- Un feeder de petit calibre (mimi-feeder) ;
- Deux supports ;
- Deux raccords reliant le feeder au feeder-machine ;

- Des morceaux de para film pouvant couvrir la grande ouverture du feeder sont découpés. Cette grande ouverture du feeder est fermée par un morceau de para film à l'aide d'un bracelet en plastique ;
- Les moustiques prennent leur repas de sang à travers cette membrane d'où le nom d'infestation sur membrane ou membrane-feeding en anglais.

❖ Mode opératoire

- Six millilitres de sang veineux sont recueillis sur chaque porteur de gamétocytes et seront utilisés pour l'infestation.
- Ce sang est, ensuite mis dans les mini-feeders, connectés les uns aux autres, par leur petite ouverture.
- Les feeders à leur tour sont connectés par les deux raccords au feeder-machine dont le thermorégulateur est déjà ajusté à 37,5° C.
- Le feeder-machine contient de l'eau qui circule à travers les feeders maintenant ainsi la température constante jusqu'à la fin des opérations.
- Les moustiques contenus dans les pots étaient appliqués à chaque feeder pendant 15-20 mn en moyenne.

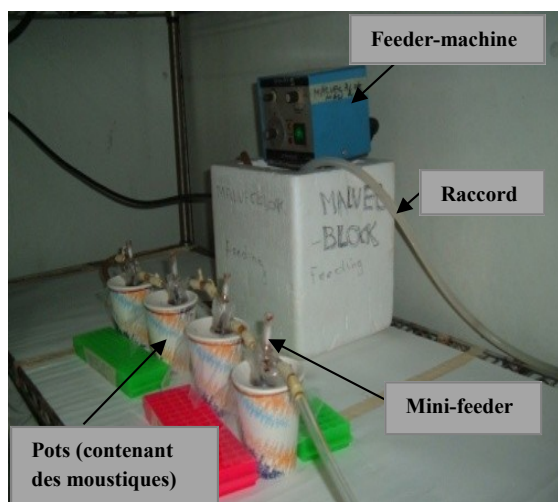


Figure 14 : Appareillage de l'infestation sur membrane. **Figure 15** : Moustiques se gorgeant de sang.

4-8-3- Infestation sur membrane «membrane feeding» de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s*

Cette méthode d'infestation a été utilisée pour l'infection des moustiques avec le sang des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum*.

Pour chaque porteur, on appliquait un pot contenant 30 moustiques de la forme moléculaire M gorgés sur le sang d'un porteur de gamétocytes de *P. falciparum*. Les marquages des pots changent en fonction du porteur (exemple : 1P1M : 1_ premier porteur, P1_ pot 1, M_ forme moléculaire M, 2P1M : 2_ deuxième porteur, P1_ pot 1, M_ forme moléculaire M).

4-9- Détermination des charges oocystiques des moustiques

Au huitième jour après l'infestation les moustiques sont disséqués. Cette dissection se faisait individuellement et nous donnions des identifiants (numéro et origine du repas sanguin) à chaque moustique disséqué.

❖ Matériels

- Loupe binoculaire
- Microscope
- Pince à disséquer
- Aiguille montée
- Mercurochrome à 0,5 %
- Lame porte-objet
- Lamelles
- Boîtes de Pétri
- Papier genre *utility wipes*
- Micro tubes
- Bic et fiches de dissection

❖ Technique de dissection

Agiter le pot contenant les moustiques pour les assommer sans les écraser puis les mettre dans une boîte de Pétri qui contient du papier absorbant mouillé. Ce qui permet d'empêcher certains moustiques ayant la chance de se réveiller de s'échapper.

Une goutte de mercurochrome 0.5% est déposée sur la lame porte-objet. Le moustique est déposé dans une 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 est 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. (Voir photo)

Sur une fiche de base indiquer la présence ou l'absence d'oocystes. Dénombrer les différents phénotypes d'oocystes par estomac et porter sur la fiche de dissection.

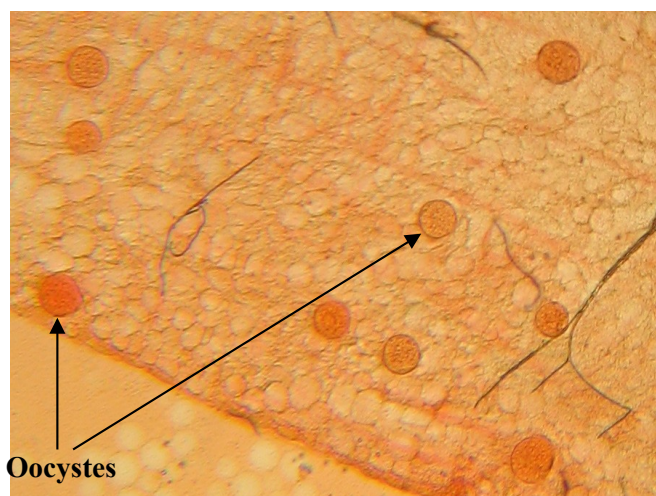


Figure 16 : Estomac d'anophèle montrant des oocystes. (WHO/TDR image collection)

4-10- Saisie et analyse des données

Les données ont été enregistrées sur des fiches de dissection, saisies sur SPSS12.0 et le texte sur Microsoft® Word 2007. Les analyses ont été effectuées sur SPSS (12.0) pour le calcul de Khi carré (X^2). La valeur $P < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

RESULTATS

5- RESULTATS

5-1- Caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.

L'étude a porté sur un total de 162 enfants âgés de 4 à 12 ans. Des gouttes épaisses ont été faites chez ces enfants après un examen clinique.

Tableau I : Répartition de la population d'étude par groupe d'âge.

Groupe d'âge	Effectifs	Pourcentage (%)
4-7 ans	96	59,2
8-12 ans	66	40,8
Total	162	100

La majorité des enfants avaient un âge compris entre 4-7 ans. Le plus jeune avait 4 ans et le plus âgé avait 12 ans.

Tableau II: Répartition de la population d'étude par sexe.

Sexe	Effectifs	Pourcentage (%)
Masculin	74	45,7
Féminin	88	54,3
Total	162	100

Le sexe féminin était dominant avec 54,3 % contre 45,7 % de sexe masculin. Le sex ratio était de 1,2 en faveur du sexe féminin.

5-2- Prévalence de l'infection palustre chez les enfants de 4-12 ans à Nanguilabougou entre Septembre 2010 et Janvier 2011.

Tableau III : Variations des indices paludométriques dans la population d'étude par passage.

Passage	Indices paludométriques					
	IP		IG		IS	
	n	%	n	%	n	%
30-Sept-2010	[9/77]	11,7	[11/77]	14,3	[5/77]	6,5
16-Oct-2010	[22/86]	25,6	[11/86]	12,8	[4/86]	4,6
30-Oct-2010	[18/73]	24,6	[8/73]	10,9	[5/73]	6,9
15-Nov-2010	[9/83]	10,9	[8/83]	9,6	[18/83]	21,7
30-Nov-2010	[2/85]	2,3	[8/85]	9,4	[7/85]	8,2
21-Déc-2010	[11/85]	12,9	[11/85]	12,9	[1/85]	1,2
23-Janv-2011	[8/72]	11,1	[9/72]	12,5	[1/72]	1,4
Total	[79/561]	14,1	[66/561]	11,8	[41/561]	7,3

n = nombre positif

N = nombre total d'enfant screené (*N* = 561)

L'IP moyen par passage était de 14,1% comprise entre 2,3% et 25,6%. Cette moyenne a subi des variations statistiquement significatives ($X^2 = 27,51$; ddl = 6 ; $P = 0,001$).

L'IG moyen par passage était de 11,8% comprise entre 9,4% et 14,3%. Cette moyenne n'a pas subi de variations statistiquement significatives ($X^2 = 64,77$; ddl = 84, $P = 0,94$).

L'IS moyen par passage était de 7,3% comprise entre 1,2% et 21,7%. Cette moyenne a subi des variations statistiquement significatives ($X^2 = 41,88$; ddl = 18 ; $P = 0,001$).

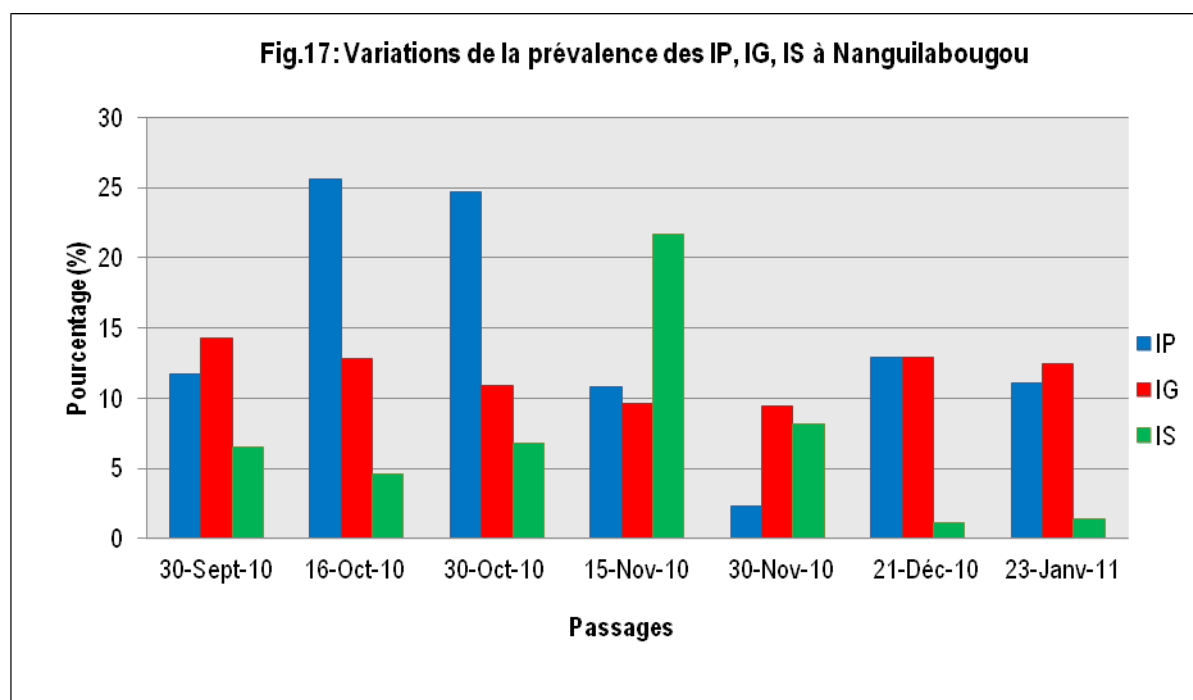


Figure 17: Prévalence des indices plasmodique, gamétocytaire et splénique dans la population d'étude à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.

5-3- Caractérisation des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* retenus pour l'infestation expérimentale entre Septembre 2010 et Janvier 2011.

Au total 30 porteurs de gamétocytes ont été sélectionnés pour les séances d'infestation expérimentale de Septembre 2010 à Janvier 2011.

Tableau IV: Répartition des sujets retenus pour l'infestation expérimentale par groupe d'âge.

Groupe d'âge	Effectifs	Pourcentage (%)
4-7 ans	20	66,7
8-12 ans	10	33,3
Total	30	100

La majorité des enfants sélectionnés au cours de l'infestation expérimentale avaient un âge inférieur ou égal 7 ans soit 66,7% (n = 20).

Tableau V : Répartition des sujets retenus pour l'infestation expérimentale par sexe

Sexe	Effectifs	Pourcentage (%)
Masculin	14	46,7
Féminin	16	53,3
Total	30	100

Le sexe féminin était plus représenté, soit 53,3% (n = 16) de l'ensemble des porteurs gamétocytes. Le sex ratio était de 1,14 en faveur du sexe féminin.

Tableau VI : Répartition des porteurs de gamétocytes par type de toit.

Type toit	Effectifs	Pourcentage (%)
Tôle	19	63,3
Paille	11	36,7
Total	30	100

La proportion des porteurs de gamétocytes habitant dans une maison en tôle était de 63,3% contre 36,7% pour la paille.

Tableau VII : Répartition des porteurs de gamétocytes en fonction de leurs charges gamétocytiques.

Classes gamétocytes	Effectifs	Pourcentage (%)
0-50	11	36,7
50-100	8	26,7
100-200	8	26,7
> 200	3	10
Total	30	100

La charge gamétocytique la plus représentée au cours de l'infestation expérimentale était ≤ 50 gamétocytes/ μ l de sang avec 36,7% (n = 11).

Tableau VIII : Répartition des porteurs de gamétocytes en fonction du groupe sanguin.

Groupe sanguin	Effectifs	Pourcentage (%)
A	14	46,7
B	4	13,3
AB	4	13,3
O	8	26,7
Total	30	100

Les porteurs de gamétocytes ayant le groupe sanguin A ont été majoritaires avec 46,7% (n=14) par rapport aux groupes B et AB avec 13,3% (n = 4) qui étaient moins représentés.

5-4- Etude des taux d'engorgement de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* après infestation expérimentale de Septembre 2010 à Janvier 2011.

Tableau IX : Taux d'engorgement des moustiques par passage.

Passage	Total exposé	Total gorgé	%Engorgement
30-Sept-10	120	114	95
16-Oct-10	360	342	95
30-Oct-10	80	68	85
15-Nov-10	150	111	74
30-Nov-10	120	105	87,5
21-Dec-10	120	116	96,7
23-Janv-11	150	150	100
Total	1100	1006	91,4

Au total, 1100 moustiques de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* ont été exposés au sang des porteurs de gamétocytes. Le taux d'engorgement moyen par passage était de 91,4% (1006/1100) évoluant entre 74% et 100%. Cette moyenne n'a pas subi de variations statistiquement significatives ($X^2 = 96,55$; ddl=84 ; P = 0,16) par passage.

Tableau X : Taux d'engorgement des moustiques par type de groupe sanguin.

Groupe sanguin	Total exposé	Total gorgé	%Engorgement
A	540	489	90,6
B	150	149	99,3
AB	120	93	77,5
O	290	275	94,8
Total	1100	1006	91,4

De façon globale le taux d'engorgement était comparable quelque soit le groupe sanguin des porteurs de gamétocytes. Il n'existait pas de différences statistiquement significatives ($\chi^2 = 63,96$; ddl = 84 ; P = 0,94). Le nombre de moustiques gorgés est plus élevé chez les sujets du groupe B (soit 99,3% ; n= 149) que chez les autres groupes sanguins.

5-5- Etude des taux de mortalité de forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* avant la dissection de Septembre 2010 à Janvier 2011.

Tableau XI : Variations de la température et de l'humidité relative de l'insectarium durant le suivi des moustiques de l'infestation expérimentale.

Passage	Temp. moyenne	HR moyenne
30-Sept-10	25,1	68,5
16-Oct-10	26,8	69,8
30-Oct-10	26,2	77,5
15-Nov-10	25,6	70,5
30-Nov-10	26,6	73,5
21-Dec-10	26,3	71,2
23-Janv-11	26,8	70
Total	26,2	71,6

La température moyenne enregistrée par passage était de 26,2%. Cette moyenne n'a pas subi de variations statistiquement significatives ($\chi^2 = 35$; ddl=30 ; P = 0,24).

L'humidité relative moyenne par passage était de 71,6%. Elle n'a pas subi de variations statistiquement significatives ($\chi^2 = 42$; ddl=36 ; P = 0,22).

Tableau XII : Taux de mortalité des moustiques au huitième jour de l'infestation expérimentale.

Passage	Total gorgé	Total mort	%Mortalité
30-Sept-10	114	110	96,5
16-Oct-10	342	296	86,5
30-Oct-10	68	27	39,7
15-Nov-10	111	95	85,6
30-Nov-10	105	39	37,1
21-Dec-10	116	61	52,6
23-Janv-11	150	33	22
Total	1006	661	65,7

Au total, 661 moustiques sont morts avant la dissection. Le taux de mortalité moyen par infestation était de 65,7% (661/1006) compris entre 22% et 96,5%. Cette moyenne n'a pas subi de variations significatives en fonction des passages ($X^2 = 149,12$; ddl=126 ; P = 0,08).

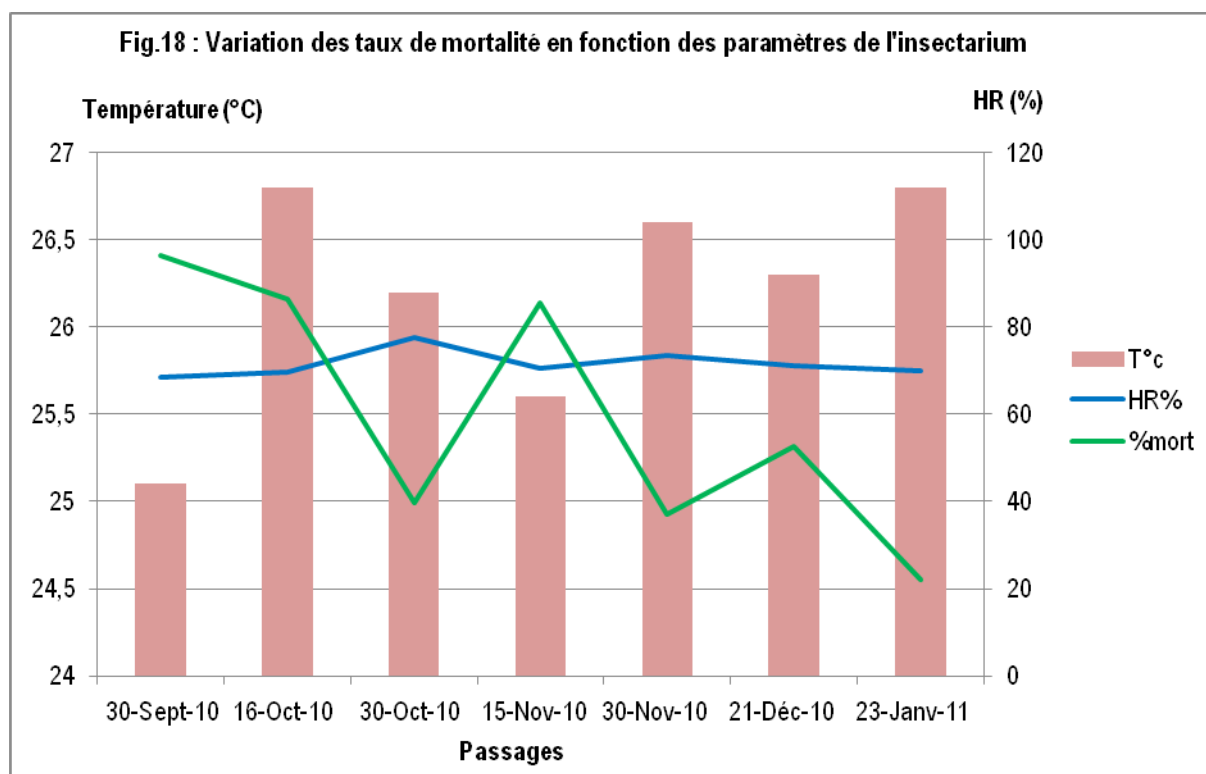


Figure 18 : Variation des taux de mortalité en fonction des paramètres de l'insectarium.

Les paramètres de l'insectarium ont beaucoup influencé sur la survie des moustiques. Le taux de mortalité le plus faible 22% avait comme (température 26,8°C et l'humidité relative à 70%) et le plus élevé 96,5% avait comme (température 25,1°C et l'humidité relative 68,5%).

5-6- Etude des taux d'infection en oocystes de la forme moléculaire M d'*An. gambiae* s.s entre Septembre 2010 et Janvier 2011.

Tableau XIII : Variations des taux d'infection des moustiques par passage.

Passage	Nbre Disséqué	Nbre Positif	%Positif
30-Sept-10	4	0	0
16-Oct-10	46	8	17,4
30-Oct-10	41	0	0
15-Nov-10	16	0	0
30-Nov-10	66	3	4,5
21-Dec-10	55	4	7,3
23-Janv-11	117	2	1,7
Total	345	17	5

Sur les 345 femelles disséquées, 17 infections ont été retrouvées, soit une moyenne de 5% moustiques infectés d'oocystes par dissection. Cette moyenne a subi des variations statistiquement significatives en mi-octobre 2010 ($X^2 = 21,668$; ddl = 6 ; P = 0,001).

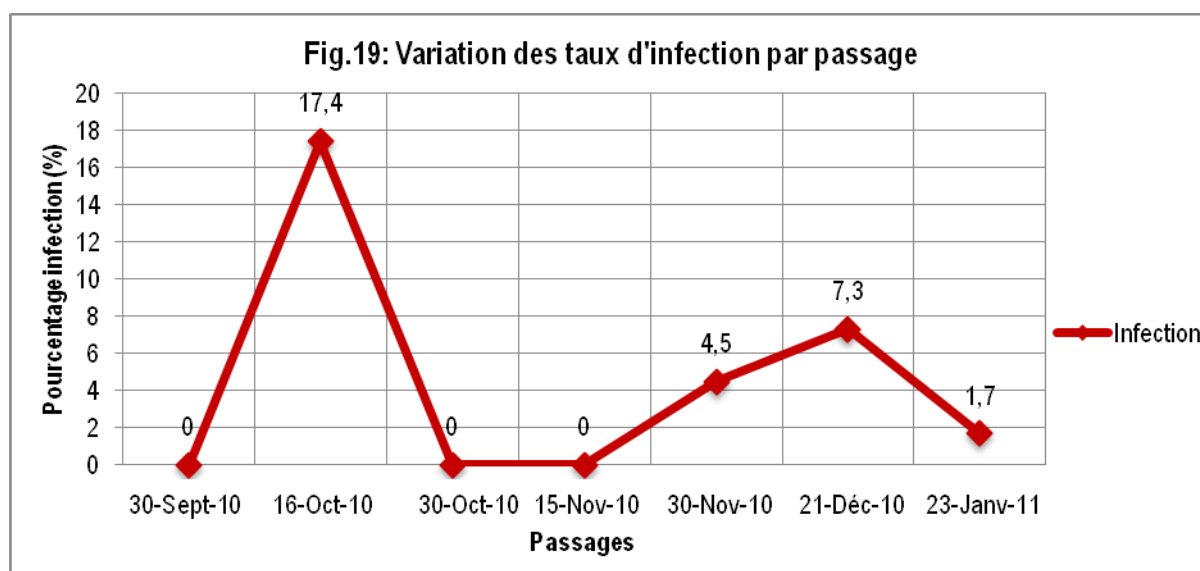


Figure 19 : Variation des taux d'infection des moustiques par passage.

Tableau XIV : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction du groupe d'âge.

Groupe d'âge	Effectifs	Nbre Infectant	%Infections
4-7 ans	20	6	30
8-12 ans	10	2	20
Total	30	8	26,7

Le groupe d'âge de 4-7 ans a plus infesté les moustiques (soit 30% ; n= 6) par rapport au groupe d'âge de 8-12 ans (soit 20% ; n= 2). Le taux d'infection moyen des moustiques pour les deux tranches d'âge a été de 26,7% (8/30). Cette moyenne n'a pas subi de variations statistiquement significatives en fonction du groupe d'âge ($X^2 = 1,841$; ddl=3 ; P = 0,606).

Tableau XV: Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction de la charge gamétocytaire.

Classes gamétocytes	Effectifs	Nbre Infectant	% Infections
0-50	11	2	18,2
50-100	8	1	12,5
100-200	8	3	37,5
> 200	3	2	66,7
Total	30	8	26,7

De façon générale, toutes les charges gamétocytiques ont infectées les moustiques. Les plus faibles taux d'infection ont été enregistré chez les sujets dont la charge gamétocytaire est comprise entre 0-100 gamétocytes/ μ l de sang. Le plus fort taux d'infection (66,7%) a été observé chez les sujets ayant une charge gamétocytaire supérieure à 200 gamétocytes/ μ l de sang. Il n'existait pas de différences statistiquement significatives entre d'infection des moustiques et la gamétocytémie des sujets ($X^2 = 10,174$; ddl = 9 ; P = 0,337).

Tableau XVI : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction du groupe sanguin.

Groupe sanguin	Effectif	Nbre Infectant	% Infection
A	14	5	35,7
B	4	1	25
AB	4	1	25
O	8	1	12,5
Total	30	8	26,7

La proportion des moustiques infectés était plus élevée chez les sujets du groupe sanguin A (35,7 %) que ceux des autres groupes sanguins B/AB/O respectivement (25% ; 25% ; 12,5%). Cependant il n'y a pas eu de différences statistiquement significatives entre l'infection des moustiques et le groupe sanguin ($X^2 = 12,147$; ddl = 18 ; P = 0,840).

Tableau XVII : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques par type de toit.

Type de toit	Effectifs	Nbre Infectant	%Infections
Paille	11	5	45,4
Tôle	19	3	15,8
Total	30	8	26,7

Le taux d'infection le plus élevé (45,4%) était observé chez les sujets dormant dans une maison en paille et le plus faible (15,8%) chez les sujets dormant dans une maison en tôle. Il n'existe pas de différences statistiquement significatives entre l'infectivité des moustiques et le type de maison ($X^2 = 6,185$; dd l= 3 ; P = 0,103).

Tableau XVIII : Infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques en fonction de la notion de prise d'antipaludiques.

Prise antipaludique	Effectifs	Nbre Infectant	%Infections
Oui	6	1	16,7
Non	24	7	29,2
Total	30	8	26,7

Le taux d'infection était plus élevé chez les sujets n'ayant pas pris d'antipaludiques (29,2%) que ceux ayant pris d'antipaludiques (16,7%). Aucune différence statistiquement significative n'a été observée ($X^2 = 1,686$; ddl = 3 ; P = 0,640).

5-7- Etude de la charge oocystique chez la forme moléculaire M d'*An. gambiae* s.s de Septembre 2010 à Janvier 2011.

Tableau XIX : La moyenne géométrique des charges oocystiques chez les moustiques infectés d'oocystes.

Passage	Nbre Disséqué	Nbre Positif	Moy. Géométrique	Variance
30-Sept-10	4	0	0	0
16-Oct-10	46	8	6,35	60,571
30-Oct-10	41	0	0	0
15-Nov-10	16	0	0	0
30-Nov-10	66	3	3,63	169
21-Dec-10	55	4	1,41	0,333
23-Janv-11	117	2	1	0
Total	345	17	3,25	61,971

La moyenne géométrique globale des charges oocystiques était de 3,25 oocystes par moustique infectés. Le test d'ANOVA a été utilisé sans tenir compte des passages où il n'ya pas eu de moustique infectés d'oocystes. Les moyennes géométriques des charges oocystiques pour les différents moustiques infectés d'oocystes était comparable de façon globale (F = 1,298 ; ddl = 3 ; P = 0,317).

Tableau XX : Fréquence des oocystes chez la forme M d'*An. gambiae* s.s. infectée par le *P. falciparum* après la dissection.

Nombre d'oocystes	Effectif	% Moustiq infecté
0	328	95,1

1-10	14	4
11-20	1	0,3
>20	2	0,6
Total	345	100

En effet 4 % des moustiques infectés avec *P. falciparum* avaient une charge oocystique comprise entre 1-10 ; 0,3 % des moustiques infectés avaient une charge oocystique comprise entre 11-20 et 0,6% de moustiques avaient une charge supérieure 20.

COMMENTAIRES & DISCUSSIONS

Le choix de la tranche d'âge 4 à 12 ans est basé sur les résultats des études antérieures menées à Bancoumana en 1994 et 1995 attestant que les porteurs de gamétocytes de cette espèce ont été observés entre le mois de Septembre 2010 à Janvier 2011 avec sept (7) passages transversaux. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'infectivité des gamétocytes de *P. falciparum* chez la forme moléculaire M d'*Anopheles gambiae s.s*.

Le choix de la tranche d'âge 4 à 12 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 d'âge infectaient mieux les moustiques que ceux d'âge supérieur à 18 ans (Touré al, 1998).

6-1- Prévalence de l'infection palustre chez les enfants de 4-12 ans à Nanguilabougou.

Au total 561 enfants ont été dépistés lors de nos différents passages à Nanguilabougou. Notre population d'étude était constituée 162 enfants âgés de 4-12ans. La tranche d'âge 4-7 ans était majoritaire avec 59,2% (96/162). Le sex ratio était de 1,2 en faveur du sexe féminin.

Au cours de nos passages, une sélection aléatoire était faite dans cette population pour le dépistage. Vue la petite taille de notre échantillon, un même individu pouvait être sélectionné au moins deux fois pour le screening, mais le porteur est choisi une seule fois pour l'infestation expérimentale.

L'indice plasmodique moyen par passage était de 14,1% (79/561). Nous avons observé une variation hautement significative de l'IP entre les passages ($P = 0,001$). Le taux le plus élevé était observé en début Octobre avec 25,6% (22/86) et le plus faible en fin Novembre avec 2,3% (2/85). Le taux moyen de l'indice gamétocytaire était de 11,8% (66/561). Il n'existait pas de différences statistiquement significatives des indices gamétocytiques en fonction des passages ($P = 0,94$). L'indice splénique moyen observé par passage était de 7,3% (41/561). Cette moyenne a subi une variation significative ($P = 0,001$). Le taux le plus élevé était observé en début Novembre avec 21,7% (18/83). Notre résultat restait en deçà de celui obtenu par Traoré en 2011, qui a obtenu un IP (46,3%), un IG (12,5%) et un IS (23,7%) dans une étude menée à Nanguilabougou chez les enfants de 3 à 10 ans. Cette différence peut être attribuée à la présence d'un Médecin sur le terrain pendant toute la période de transmission.

6-2- Infestation expérimentale

Les moustiques utilisés dans notre étude appartiennent à la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* issus d'un gîte larvaire en provenance de Nanguilabougou. Leur élevage à l'insectarium a permis d'éviter le manque de moustiques pour les infestations expérimentales.

Une ponction veineuse a été faite sur les enfants de 4 à 12 ans, volontaires, naturellement infectés et porteurs de gamétocytes de *P. falciparum*. Immédiatement après le

prélèvement, le sang est mis en contact avec les moustiques à travers la membrane de parafilm pendant 20-30 minutes. Trente porteurs de gamétocytes ont servi à gorger les moustiques.

6-2-1- Caractérisation des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* pour l'infestation expérimentale.

Dans notre étude, la moyenne d'âge des porteurs de gamétocytes était de 7,07ans se trouvant dans la tranche indiquée comme mieux infectant. Ce résultat était comparable à celui obtenu par Sacko en 2008 à Kénioroba qui a trouvé une moyenne d'âge de 7 ans chez les porteurs de gamétocytes.

Le sex ratio était de 1,14 en faveur du sexe féminin avec respectivement 53,3% (16/30) pour le sexe féminin et 46,7% (14/30) pour le masculin. La proportion des sujets habitant dans une maison en tôle était de 63,3% (19/30) contre 36,7% (11/30) pour la paille. La répartition des groupes sanguins chez les porteurs de gamétocytes était de 46,7% (A), 13,3% (B), 13,3% (AB) et 26,7% (O). La fréquence de l'automédication antipaludique chez ces porteurs de gamétocytes était de 20% (6/30). Ce résultat était deux fois plus supérieur à celui obtenu par Traoré en 2011 qui a trouvé une fréquence d'automédication antipaludique chez les enfants de 3-10 ans à 10% (8/80). La charge gamétocytaire moyenne était 114,1 gamétocytes/ μ l de sang. Cette moyenne n'a pas subi de variations statistiquement significatives ($P = 0,24$). La plus forte charge gamétocytaire était de 562 gamétocytes/ μ l de sang observée chez un enfant (un garçon de 4 ans).

6-2-2- Etude des taux d'engorgement chez la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s*.

Au total, 1100 moustiques de la colonie M forme d'*An. gambiae s.s* ont été exposés au sang des porteurs de gamétocytes. Le taux d'engorgement moyen par passage était de 91,4% (1006/1100). Ce taux n'a pas subi de variation statistiquement significative ($P = 0,16$).

Au cours de notre étude, nous avons évalué l'influence du groupe sanguin sur le repas sanguin des moustiques. En effet, nous avons constaté que les moustiques se gorgeaient sur tous les sujets quelque soit le type de groupe sanguin ; mais le taux d'engorgement était plus élevé chez les sujets du groupe sanguin O avec 94,8% (275/290) que ceux des groupes AB c'est-à-dire A, B et AB avec 90,2% (731/810). Nous n'avons pas observé de différences statistiquement significatives entre l'engorgement des moustiques et le type de groupe sanguin des porteurs de gamétocytes ($P = 0,94$). Notre résultat était comparable à celui obtenu

par Diallo en 2001 à Bancoumana qui a obtenu un taux d'engorgement des moustiques à 86,4% (235/272) pour le groupe O contre 69,8% (370/530) pour les groupes AB (A, B et AB). Il a conclu que les moustiques se gorgeaient mieux sur les sujets du groupe O que ceux des groupes AB.

6-2-3- Etude des taux d'infection et de la charge oocystique chez la forme *M d'An. gambiae s.s.*

Au huitième jour de l'infestation, les moustiques survivants ont été disséqués. Sur un total de 345 moustiques disséqués ; le taux moyen d'infection était de 5% (17/345) par dissection. Cette moyenne a subi une variation statistiquement significative ($P = 0,001$) en mi-octobre 2010. Parmi les porteurs de gamétocytes, 26,7 % ont infecté un ou plusieurs moustiques.

Ce taux faible d'infection s'expliquait par le fait que nous avons observé un fort taux de mortalité des moustiques avant le jour de la dissection soit 65,7% (661/1006). Cela était dû aux mauvaises conditions des paramètres de l'insectarium (la température moyenne 26,2°C et l'humidité relative moyenne 71,6%). Comme nous avons signalé plus haut, la modification de ces paramètres peut jouer sur le développement de la sporogonie chez le moustique.

Une analyse multifactorielle incluant, le type de maison, la notion de prise d'antipaludiques, le groupe sanguin, la densité gaméocytaire et l'âge des enfants n'a pas permis de mettre en évidence une différence statistiquement significative quant à l'infectivité des moustiques par rapport à ces déterminants.

L'infectivité des gamétocytes était d'autant plus élevée que les sujets appartenaient à une classe d'âge inférieure ou égale à 7 ans (30% ; $P = 0,61$). Selon la charge gaméocytaire des porteurs, nous avons constaté que toutes les charges étaient capables d'assurer une infection des moustiques. Le plus fort taux d'infection 66,7% a été observé chez les sujets ayant une charge gaméocytaire supérieure à 200 gamétocytes/ μ l de sang. L'infectivité des moustiques était d'autant plus élevée que les densités gaméocytaires étaient faibles. Ce paradoxe de l'infectivité des gamétocytes de *P. falciparum* pour le moustique avait été noté par de nombreux auteurs (Gamage-Mendis et *al.*, 1991; Tchuikam et *al.*, 1993).

Les taux d'infection des moustiques par rapport au groupe sanguin étaient respectivement de 31,8% (7/22) pour les groupes AB et 12,5% (1/8) pour le groupe O. Nous n'avons pas observé de variations statistiquement significatives entre l'infectivité des moustiques et le type de groupe sanguin ($P = 0,84$). Malgré la petite taille de notre

échantillon, notre résultat était comparable à celui obtenu par Diallo en 2001 qui a trouvé un taux d'infection plus élevé des moustiques chez les sujets du groupe AB (90,7% ; 39/43) et (87,1% ; 34/39) pour le groupe O.

Les faibles niveaux d'infections et des charges oocystiques observés au cours de notre étude seraient liés d'une part aux mauvaises conditions de l'insectarium pouvant être néfaste à la survie et au développement sporogonique des moustiques ou d'autre part aux nombres de moustiques exposés par porteurs de gamétocytes (30 moustiques/porteur).

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* par les porteurs de gamétocytes de *P. falciparum*, deux questions de recherche ont été abordées en rapport avec les relations entre le vecteur, le parasite et l'hôte intermédiaire :

- le pouvoir infectieux des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* aurait-il un effet sur l'infection des moustiques de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* ?
- la dynamique de la transmission du paludisme à l'homme par le moustique changerait-elle d'un individu à l'autre ?

Les résultats obtenus sur l'épidémiologie de la transmission du paludisme chez les enfants de 4 à 12 ans, nous permettent de conclure que le village de Nanguilabougou fait parti des zones à endémie palustre par excellence.

Les sujets ayant un antigène de groupe sanguin quel qu'il soit (A, B, AB) transmettent le parasite au moustique, mais moins que les porteurs de gamétocytes qui en sont dépourvus (groupe O). Les porteurs n'ayant pas pris d'antipaludiques ont plus infectés les moustiques que ceux sujets ayant pris de médicaments. Nous avons observé que le pouvoir infectieux des gamétocytes variait en fonction de la densité gamétocytaire, de la tranche d'âge (< 7ans avec 30%).

Le faible taux d'infection des moustiques en oocystes pourrait certes s'expliquer soit : (i) par les fluctuations des différents paramètres de l'insectarium ou (ii) par un anticorps circulant qui peut avoir des effets réducteurs sur les taux.

La différence observée entre nos résultats et ceux d'autres auteurs serait liée soit à l'âge des porteurs de gamétocytes, du nombre de moustiques exposés et infectés qui était beaucoup moins important dans notre étude.

A la lumière de nos résultats, nous souhaiterions que la présente étude puisse se poursuivre sur le plan immunologique et génétique pour :

- Rechercher sur le plan immunologique les différents facteurs humains bloquant l'infection des moustiques dans les perspectives d'un candidat vaccin pour bouter le paludisme hors de la planète,
- Rechercher et caractériser le ou les gènes impliqués dans le blocage du développement des plasmodies chez *An. gambiae s.s*. en vue de l'élaboration d'une stratégie de lutte basée sur les moustiques réfractaires au développement du parasite.

Au vu de ces résultats, nous recommandons :

- ❖ Aux autorités et partenaires techniques et financiers (PTF) compétents, de financer et d'encourager de telles études qui pourront avoir une contribution dans la compréhension de la biologie du moustique et de ses interactions avec les parasites.

- ❖ Aux chercheurs, de mener ces études similaires sur les deux formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s* en utilisant plus de moustiques pour les infestations expérimentales.

RESUME

Titre : « Etude de l'infectivité des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* chez la forme moléculaire M d'*Anopheles gambiae s.s* en zone d'endémie palustre de Nanguilabougou ».

Année de soutenance: 2012

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS - Université de Bamako (UB), Mali

Secteur d'intérêt : Entomologie et Parasitologie médicales

Résumé :

De Septembre 2010 à Janvier 2011 nous avons conduit une étude d'infestation expérimentale dans un village de la savane sud soudanienne du Mali (Nanguilabougou à 63 kms de Bamako). Ce travail consistait à d'étudier l'infectivité des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* chez la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s* par la technique d'infestation sur membrane.

Des passages transversaux ont été organisés pour la sélection des porteurs de gamétocytes. Les données parasitologiques recueillies chez les enfants de 4 à 12 ans étaient respectivement (IP = 14,1% ; IG = 11,8% ; IS = 7,3%) faisant Nanguilabougou une zone d'endémie palustre. Les collectes de larves d'*An. gambiae s.l* dans un gîte géo référencié ont permis d'établir la colonie M forme d'*An. gambiae s.s* par la technique de biologie moléculaire et la cytogénétique. Trente infections expérimentales avec le sang des différents porteurs de gamétocytes ont été effectuées. Après la dissection, 26,7% des porteurs de gamétocytes ont donné au moins un moustique positif en oocyste. Parmi les infections réussies, le pourcentage moyen de moustiques infectés était de 5% et la moyenne d'oocystes par estomac infecté était de 3,25. La densité gamétocytaire a été identifiée comme facteur déterminant le succès et le taux d'infection des moustiques (66,7% d'infection pour les charges gamétocytiques supérieures à 200 gamétocytes par μ l de sang). Aucune différence significative n'a été trouvée pour l'âge des porteurs de gamétocytes, le groupe sanguin, le type de toit et la notion de prise d'antipaludique.

Il serait souhaitable que la présente étude puisse se poursuivre sur le plan génétique (gènes candidats) et ou immunologique (candidat vaccin) pour rechercher le ou les déterminants qui seraient associés dans le blocage du développement du parasite chez l'homme et ou chez le moustique.

Mots clé : Infection expérimentale, Gamétocytes, Forme moléculaire, *Anopheles gambiae*, *Plasmodium falciparum*.

Personal details card

Last name: MARIKO

First name: Modibo

Title: « Study of the infectivity of gametocytes of *P. falciparum* with the molecular form M of *An. gambiae s.s* in malaria endemic areas of Nanguilabougou».

Year of Viva Voce: 2012

City of Viva Voce: Bamako

Country of origin: Mali

Registration of Copy: FMPOS library-University of Bamako (UB), Mali

Area of Interest: Medical Entomology and Parasitology.

Summary:

From September 2010 to January 2011 we conducted an experimental study of infection in a village in southern Sudan savanna of Mali (Nanguilabougou 63 km from Bamako). This work was to study the infectivity of gametocytes of *Plasmodium falciparum* in the M molecular form of *An. gambiae s.s* by the technique of membrane feeding.

Of transverse passages were organized for the selection of gametocyte carriers. Parasitological data collected for children aged 4 to 12 respectively (IP = 14,1% IG = 11,8%, IS = 7,3%) Nanguilabougou making a malaria endemic area. The collections of larvae of *An. gambiae s.l* in a bed georeferencing have established the colony M form of *An. gambiae s.s* by the technique of molecular biology and cytogenetic. Thirty experimental infections with the blood of different gametocyte carriers were performed. After dissection, 26,7% of gametocyte carriers gave at least one positive mosquito oocyst. Among the successful infections, the average percentage of infected mosquitoes was 5% and the average of oocyst per infected stomach was 3,25. Gametocyte density was identified as a factor determining the success and the infection rate of mosquitoes (66,7% of infection for loads greater than 200 gametocyte gametocytes/ μ l of blood). No significant difference was found for the age of the gametocyte carriers, blood type, and type of roof and the notion of taking control.

It is hoped that this study can be continued at the genetic level (candidate genes) and or immunological (candidate vaccine) or to search for the determinants that are involved in blocking the development of the parasite in humans and in the mosquito.

Keywords: Experimental infection, Gametocytes, Molecular form, *Anopheles gambiae*, *Plasmodium falciparum*.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ashida M and Brey P.T. - Recent advances in research on the insect prophenoloxidase cascade. Molecular mechanisms of immune Responses in insects. *Chapman and hall, London*, 1998, pp135-172.
2. Bassene H. - Etude de la transmission du paludisme : dépistage des *Anopheles* infectés et identification des espèces plasmodiales par ELISA-CSP et PCR. *Mémoire de fin d'étude à l'Ecole Pratique des Hautes Etudes soutenu le 08/12/2007*.
3. Beier J.C. - Frequent blood feeding and restrictive sugar-feeding enhance the malaria vector potential of *Anopheles gambiae s.l.* and *An. funestus* (Diptera: Culicidae) in Western Kenya. *J. Med. Entomol*, 1996, 33: 613-618.
4. Beier J.C, Oster C.N, Koros J.K, Onyango F.K, Githeko A.K and *al.*- Effect of human circumsporozoite antibodies in *Plasmodium* infected *Anopheles* (Diptera:Culicidae). *J. Med. Entomol*, 1989, 26: 547-553.
5. Besansky N.J, Hill C.A, Costantini C. - No accounting for taste: host preference in malaria vectors. *Trends parasitol.* 2004 Jun, 20(6):249-251.
6. Billingsley P F and Rudin W. - The role of the mosquito peritrophic membrane in blood meal digestion and infectivity of *Plasmodium* species. *J Parasitol*, 1992, 78: 430-440.
7. Billingsley P.F and Hecker H. - Blood digestion in the mosquito, *Anopheles stephensi*: activity and distribution of trypsin, aminopeptidase and alpha-glucosidase in the midgut. *J Med Entomol* 1991, 28: 865-871.
8. Birago C, Bucci A, Dore E, Frontali C and Zenobi P. - Mosquito infectivity is directly related to the proportion of repetitive DNA in *Plasmodium berghei*. *Mol Biochem Parasitol*, 1982, 6: 1-12.
9. Boudin C and Robert V - *Plasmodium falciparum* : Epidémiométrie 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.
10. Boudin C, Olivler M, Molez J.F, Chiron J.P and Ambroise -Thomas P. – High human malarial infectivity to laboratory-bred *Anopheles gambiae* in a village in Burkina Faso. *Am. f. Trop. Med. Hyg.*, 1993, 48: 700-706.

11. Boudin C, Lyannaz J, Bosseno M. F, Chaize J and Carnevale P.- "Production of sporozoites of human Plasmodium in Bobo-Dioulasso (Burkina Faso)." *Ann Soc Belg Med Trop.* 1989, 69(1): 3-23.
12. Bronner U, Paul C.S.D, Anna F and Balbir S : - Swedish traveller with Plasmodium knowlesi after visiting Malaysian Borneo. *Malaria Journal.* 2009: 8: 15.
13. Brooke M.M and Donaldson A.W - Transfer of malaria parasites between blood films mass staining procedures. *Publ Hlth Reports,* 1948, 63: 991-1004.
14. Bruce-Chwatt, L. J. "Chemotherapy of Malaria, Geneva, WHO".1986
15. Buckling A and Read A. - The effect of chloroquine treatment on the infectivity of *Plasmodium chabaudi* gametocytes. *Int J, Parasitology,* 1999, 619-625
16. Chardome M and Janssen PJ - Enquête sur l'incidence malarienne par la méthode dermique dans la région du Lubilash, Congo Belge. *Ann Soc Belge Méd. Trop,* 1952, 32: 209-211.
17. Chutmongkonkul M, Maler W.A and Seltz H.M - *Plasmodium falciparum*: Effect of chloroquine, halofantrine and pyrimethamine on the infectivity of gametocytes for *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Ann. Trop. Med. Parasitol.,* 1992, 86 : 103-110.
18. Clements A.N - *The biology of mosquitoes.* Chapman and Hall, Londre, 1992, voll, p.509.
19. Collins F.H., Sakai R.K., Vernick K.D., Paskewitz S., Seeley D.C and *al.*- Genetic selection of *Plasmodium* refractory strain of the malaria vector *Anopheles gambiae.* *Science,* 1986, 234: 607-610.
20. Coluzzi M, Sabatini A, Della-Torre A, Di Deco M.A, Petrarca V.- A polytene chromosome analysis of the *Anopheles gambiae* species complex. *Science.* 2002, 298: 1415-1418.
21. Coulibaly M. B.- Comparaison de deux méthodes d'infection expérimentale des moustiques comme moyen d'évaluation des vaccins de blocage de la transmission du paludisme à Bancoumana, Mali. *Thèse de pharmacie FMPOS,* 1999.

22. Day K.P, Hayward R.E and Dyer M. - The biology of *Plasmodium falciparum* transmission stages. *Parasitology*, 1998, 116 : suppl., S95-S109.
23. Della Torre, A., Tu, Z. & Petrarca, V. - On the distribution and genetic differentiation of *Anopheles gambiae s.s* molecular forms. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2005; 35:755–769. (doi:10.1016/j.ibmb.2005.02.006).
24. Diabaté A, Dao A, Yaro A S, Traoré S F, Lehmann T and al.- Spatial swarm segregation and reproductive isolation between the molecular forms of *Anopheles gambiae*. *Proc. R. Soc. B* published online 4 September 2009 doi: 10.1098/rspb.2009.1167.
25. [Diabate A](#), [Baldet T](#), [Bregues C](#), [Kengne P](#), [Dabire K R](#) and al.- Natural swarming behaviour of the molecular M form of *Anopheles gambiae*; 2003
26. Diallo M. – Paramètres épidémiologiques de la transmission de *Plasmodium falciparum* dans le village de Bancoumana ; pouvoir infectieux des porteurs de gamétocytes pour la préparation de sites d'essais vaccinaux bloquant la transmission. *Thèse de Doctorat, Spécialité Parasitologie et Entomologie Médicale ; FMPOS ;* 2001.
27. Diallo M, Touré A M, Traoré S F, Niaré O, Doumbo O and al. - Evaluation and optimization of membrane feeding compared to direct feeding as an assay for infectivity. *Malaria Journal* 2008, 7:248 doi : 10.1186/1475-2875-7-248.
28. Doumbo O, Koita O, Traoré S.F, Sangaré O, Robert V and al.- Les aspects parasitologiques de l'épidémiologie du paludisme dans le Sahara Malien. *Médecine d'Afrique Noire*, 1991, 32 (2) : 103.
29. Dowling M and Shute G.T - A comparative study of thick and thin blood films in the diagnosis of scanty malaria parasitaemia. *Bull. Org. Mond. Santé*, 1966, 34: 249-267.
30. Fanello C, Santolamazza F and Della-Torre A. - Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Med. Vet. Entomol.* 2002, 16: 461-4.
31. Favia G, Lanfrancotti A, Spanos L, Siden-Kiamos I, Louis C.- Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae s.s*. *Insect. Mol. Biol*, 2001, 10(1).

32. Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene P.H, Kengne P, Antonio-Nkondjio C and al.- Malaria vectors: from the field to genetics. Research in Africa]. *Rev. Epidemiol. Sante Publique*, 2005, 53 (3) : 283
33. Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene P.H, Antonio-Nkondjio C, Wondji C and al.-Systématique et Biologie des *Anopheles* vecteurs de *Plasmodium* en Afrique. Données récentes, 2003. *Med Trop.* 63 : 247.
34. Fouet C.- « Polymorphisme chromosomique et Adaptation a l'aridité chez *Anopheles gambiae sensu stricto* » Thèse, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (Paris) ; 2010.
35. Gamage-Mendis A. C., Rajakaruma J., Carter R., Mendis K. N : Infectious reservoir of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria in an endemic region of Sri Lanka. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 1991, 45 : 479-487.
36. Gary R.E and Foster W.A. - Effects of available sugar on the reproductive fitness and vectorial capacity of malaria vector *Anopheles gambiae*. *J. Med. Entomol*, 2001, 38 : 22-28.
37. Gass R.F and Yeates R.A. - *In vitro* damage of cultured ookinete of *Plasmodium gallinaceum* by digestive proteinases from susceptible *Aedes aegypti*. *Acta Trop*, 1979, 36 : 243-252.
38. Gentilini M. Médecine tropicale, 5ème édition. Flammarion, France. 1993.
39. Githeko A.K , Brandling-Bennett A.D , Beier MJ, Atieli F, Owaga M and Collins F.H.J. - The reservoir of *Plasmodium falciparum* malaria in holoendemic area of western kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, 86 : 355-358.
40. Graves P.M, Wirtz R.A, Carter R, Burkot T.R, Looker M and Targett G.A.- Naturally occurring antibodies to an epitope on *Plasmodium falciparum* gametes detected by monoclonal antibody-based competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Infect Immun*, 1988, 56: 2818-2821.
41. Graves P.M, Burkot T.R, Cattani J.A, Lagog M, Parker J and al.- Measurement of malaria infectivity of human population to mosquitoes in the Madang area. Papua New Guinea, *Parasitology*, 1988, 96: 251-263.

42. Graves P.M, Carter R, and Mc Neill K.M. - Gametocyte production in cloned lines of *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg*, 1984, 1045-1050.
43. Grotendorst C.A and Carter R. - Complement effects on the infectivity of *Plasmodium gallinaceum* to *Aedes aegypti* mosquitoes. Changes in sensitivity to complement like factors during zygote development. *J. Parasitol*, 1987, 73 : 980-984.
44. Guérin J.P, Olliaro P, Nosten O, Druilhe P, Laxminarayan R et al.- Malaria: current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. *Lancet Inf Dis*, 2002, 2 : 564-573.
45. Healer J, McGuinness D, Hopcroft P, Haley S, Carter R and Riley E. - Complement-mediated lysis of *Plasmodium falciparum* gametes by malaria-immune human sera is associated with antibodies to the gamete surface antigen Pfs230. *Infect Immun*, 1997, 65: 3017-3023.
46. Hoffman S.L, Wistar R, Ballou W.R, Hollingdale M.R, Wirtz R.A et al. - Immunity to malaria and naturally acquired antibodies to the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum*. *N Engl J Med*, 1986, 315: 601-606.
47. Hogg B, Gamage-Mendis A, Butcher G.A, Thompson R, Begtrup K et al.- The differing impact of chloroquine and pyrimethamine/ sulfadoxine upon the infectivity of malaria species to the mosquito vector. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, 58: 176-182.
48. Huber M, Cabib E and Miller L.H. - Malaria parasite chitinase and penetration of the mosquito peritrophic membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 2807-2810.
49. Hunt R. H, Coetzee M and Fettene M. - The *Anopheles gambiae* complex: a new species from Ethiopia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1998, 92 (2) : 231.
50. Jeffery G. M. and Eyles D.E. - "Infectivity to mosquitoes of *Plasmodium falciparum* as related to gametocyte density and duration of infection." *Am J Trop Med Hyg*. 1955, 4(5): 781-9.
51. Jensen J. B. - Observations on gametogenesis in *Plasmodium falciparum* from continuous culture. *ProtozoL*, 1979, 26: 129-132.

52. Kelly R and Edman J.D. - Infection and transmission of *Plasmodium gallinaceum* (Eucoccida: Plasmodidae) in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): effect of preinfection sugar meals and postinfection blood meals. *J Vect Ecol*, 1997, 22 : 36-42.
53. Koïta O. - Epidémiologie du paludisme le long de la route Trans-saharienne du Mali. *Thèse de pharmacie* (Aout- Sept. 1988), 88p-26.
54. Kouriba B. - Ecologie de la chloroquino-résistance au Mali: Intérêt d'un test de détection des souches chloroquino-résistantes de *Plasmodium falciparum* par l'utilisation de l'hydrogène trituré de verapamil. *Thèse de pharmacie de l'ENMP*. 1993.
55. Kumar N and Carter R. - Biosynthesis of 2 stage specific membrane proteins during transformation of *Plasmodium gallinaceum* zygotes into ookinetes. *Mol Biochem Parasitol*, 1985, 14: 127-139.
56. Langer R. C. and Vinetz J. M. - *Plasmodium* ookinete-secreted chitinase and parasite penetration of the mosquito peritrophic matrix. *Trends Parasitol*, 2001, 17: 269-272.
57. Le Goff G, Le Hesran J.Y and Robert V. - Le four à micro-ondes pour le séchage des gouttes épaisses. Intérêt et limites dans l'observation microscopique des trophozoïtes et des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*. *Bull. Soc. Pathol. Exot*, 1998, 91: 214-216.
58. Lensen A, Bril A, Van De Vegte M, Van Gemert G.J, Eling W and Sauerwein R. - *Plasmodium falciparum*: Infectivity of cultured, synchronized gametocytes to mosquitoes. *Exp Parasitol*, 1999, 91: 101-103.
59. Lensen A, Mulder L, Tchuinkam T, Willemsen L, Eling W and Sauerwein R.- Mechanisms that reduce transmission of *Plasmodium falciparum* malaria in semi-immune and non-immune persons. *J. Infec. Dis*, 1998, 177: 1358-1363.
60. Lensen A.H, Bolmer-Van De Vegte M, Van Gemert G.J, Eling W.M and Sauerwein R.W. - Leukocytes in a *Plasmodium falciparum* infected blood meal reduce transmission of malaria to *Anopheles* mosquitoes. *Infect. Immun*, 1997, 65: 3834-3837.
61. Lyimo E.O and Koella J.C. - Relationship between body size of adult *Anopheles gambiae sl* and infection with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Parasitology*, 1992, 104: 233- 237.

62. Mendis C, Gaurage-Mendis A.C, De Zoysa A.P.K, Abhaya Wardena T.C, Carter R and Mendis K.N,- Characteristic of malaria transmission in Kataragama, Sri-Lanka : a focus for immune-epidemiological studies. *Am. Trop. Med. Hyg.* 1990, 42: 298-308
63. Modiano D, Luoni G, Sirima B.S, Simporé J, Verra F and *al.*- Haemoglobin C protects against clinical *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature.* 2001, 414(6861):305-8.
64. Muirhead Thomson R.C. - The malarial infectivity of an african village population to mosquitoes (*Anopheles gambiae*): A random xenodiagnostic survey. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1957, 6: 971-979.
65. Mulder B, Van Der Ligt W, Sauerwein R and Verhave J.P. - Detection of *Plasmodium falciparum* gametocytes with the QBC test and Giemsa-stained thick blood films for malaria transmission studies in Cameroon. *Trans R Soc Trop Med. Hyg.* 1998, 92 : 395-396.
66. Mulder B, Tchuinkam T, Verhave J.P and Robert V.- Malaria transmission-blocking activity in the plasma of *Plasmodium falciparum* gametocyte carriers in Cameroon. *Parasitologia*, 1993, 35 Suppl.: 65-7.
67. Naotune T.S, Karunaweera N.D, Mendis K.N and Carter R. - Cytokine-mediated inactivation of malarial gametocytes is dependent on the presence of white blood cells and involves reactive nitrogen intermediates. *Immunology*, 1993, 78 : 555- 562.
68. Nardin E H, Nussenzweig R.S, Mc Gregor I.A and Bryan J.H. - Antibodies to sporozoites. Their frequency occurrence in individuals living in an area of hyperendemic malaria. *Science*, 1979, 206: 597-599.
69. Niederwieser I, Felger I and Beck H.P. - *Plasmodium falciparum*: Expression of gametocyte specific genes in monolayer cultures and malaria positive blood samples. *Exp Parasitol*, 2000, 95: 163-169.
70. Noden B.H, Beadle P.S, Vaughan J.A, Pumpuni C.B, Kent M.D and Beier J.C. - "*Plasmodium falciparum*: The population structure of mature gametocyte cultures has little effect on their innate fertility." *Acta Trop.* 1994, 58(1): 13-9.
71. Nosten F, Hien T.T, White N.J. - Use of artemisinin derivatives for the control of malaria. *Med. Trop.* 1998, Mars; 58: (3 Suppl.): 45-9.

72. Nudelman S, Renia L, Miltgen F and Mazier D. - Dual action of anti-sporozoite antibodies *in vitro*. *J Immunol*, 1989, 143 : 996-1000.
73. Nussenzweig V and Nussenzweig R.S. – Circum sporozoite proteins of malaria parasites. *Cell*, 1985, 42 : 401-403.
74. OMS. Rapport 2011 sur le paludisme dans le monde (WHO & Global Malaria Programme, 2011).
75. OMS. *Lutte contre les vecteurs du paludisme et autres maladies transmises par des moustiques*. Rapport d'un Groupe d'étude de l'OMS. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1995 (OMS, Série de Rapports techniques, N° 857).
76. OMS. Stratégies de lutte contre le paludisme dans la région africaine et étapes pour leur mise en œuvre. *Cahiers Techniques AFRO*, 2003. 25: 1-20.
77. Paskewitz S.M, Brown M.R, Lea A.O and Collins F.H. - Ultrastructure of the encapsulation of *Plasmodium cynomolgi* (B strain) on the midgut of a refractory strain of *Anopheles gambiae*. *J. Parasitol*, 1988, 74: 432-9.
78. Peiris J.S, Premawansa S, Ranawaka M.B, Udagama P.V, Munasinghe Y.D *et al.*- Monoclonal and polyclonal antibodies both block and enhance transmission of human *Plasmodium vivax* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 1988, 39: 26-32.
79. Pichon G, Awono-Ambéné H.P and Robert V. - High heterogeneity in the number of *Plasmodium falciparum* gametocytes in the blood meal of mosquitoes fed on the same host. *Parasitology*, 2000, 121: 115-120.
80. PNLP-Mali. *Enquête sur la prévalence de l'Anémie et de la Parasitémie palustre chez les enfants (EA&P) au Mali, 2010*.
81. Ponnudurai T, Lensen A.H., Van Gemert G.J, Bensink M.P, Bolmer M and Meuwissen J.H.- "Infectivity of cultured *Plasmodium falciparum* gametocytes to mosquitoes." *Parasitology*. 1989, 98: Pt 2: 165-173.
82. Ponnudurai TV, Meuwissen J.H.T and Verhave J.P. - The production of mature gametocytes of *Plasmodium falciparum* in continuous cultures of different isolates infective to mosquitoes. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*, 1982, 76: 242-250.

83. Read A.F, Narara A, Nee S, Keymer A.E and Day K.P. - "Gametocyte sex ratios as indirect measures of out crossing rates in malaria." *Parasitology*, 1992, 104 (Pt 3): 387-395.
84. Richards A.G and Richards P.A. - The peritrophic membrane of insect. *Annu. Rev. Entomol*, 1977, 22: 219-240.
85. Robert V, Le Goff G, Gouagna L.C, Sinden M, Kieboom J *et al.*- "Kinetics and efficiency of *Plasmodium falciparum* development in the midguts of *Anopheles gambiae*, *An. funestus* and *An. nili*." *Ann. Trop. Med. Parasitol*, 1998, 92: 115-118.
86. Robert V, Molez J.F and Trape J.F.- "Short report: gametocytes, chloroquino pressure, and the relative parasite survival advantage of resistant strains of *falciparum* malaria in west Africa." *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1996, 55(3): 350-351.
87. Rutledge L.C, Ward R.A and Could D.J. - Studies on the feeding response of mosquitoes to nutritive solutions in a new membrane feeder. *Mosq. News*, 1964, 24: 407-419.
88. Sacko M.- Etude de l'infectivité de *Plasmodium Berghei* et *Plasmodium falciparum* chez *Anopheles gambiae* s.s. *Thèse de Médecine*, Juin 2008.
89. Shahabuddin M, Lemos F.J.A, Kaslow D.C and Jacobs-Lorena M. - Antibody mediated inhibition of *Aedes aegypti* midgut trypsin blocks sporogonic development of *Plasmodium gallinaceum*. *Infect. Immunol*, 1996, 64: 739-743.
90. Shahabuddin M, Toyoshima T, Aikawa M and Kaslow D.C. - Transmission-blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malaria parasite chitinase by mosquito protease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 4266-4270.
91. Sinden R.E. - Gametocytes and sexual development. In: Sherman IW (Ed), *Malaria: parasite biology, pathogenesis, and protection*. *American Society for Microbiology Press, Washington DC*, 1998, pp. 25-48.
92. Sinden R.E and Smalley M.E. - Gametocytes of *Plasmodium falciparum*. Phagocytosis by leucocytes *in vivo* and *in vitro*. *Trans, R. Soc Trop. Med Hyg*, 1976, 70: 344-345.

93. Sites internet

- a. <http://www.rph.wa.gov.au/malaria/falcip.gif> mai2010
- b. <http://lozere.org/perso/malaria/parasit.htm#HOM> mai2010
- c. http://www.unituebingen.de/modeling/Mod_Malaria_Cycle_fr.html Avril2011
- d. http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/09262002/00008/A.gambiae.1354.p_lores.jpg2001
- e. <http://pagespersoorange.fr/SVT.oceanIndien/cyclemoustique/cyclemoustique.htm2008>
- f. http://www.pasteur.mg/Atelier-Palu/2004/pdf/presentations/silai_s2.pdf
- g. http://lozere.org/perso/malaria/Lutte_antilarvaire.htm Sept2008
- h. <http://www.guyane-guide.com> 2005
- i. <http://www.impact-malaria.com> juin2011
- j. <http://www.ac-reunion.fr/hygieneetsecurite/chik/pdf/bio-mous.pdf> Avril2010
- k. <http://www.malaria.tun> juin2009

94. Smalley M.E. - *Plasmodium falciparum* gametocytogenesis *in vitro*. *Nature*. 1976, 264: 271-272.

95. Sokhna C.S, Trape J.F and Robert V. - Gametocytes in Senegalese children with uncomplicated *falciparum* malaria treated with chloroquine, amodiaquine or sulfadoxine and pyrimethamine. *Parasite*, 2001, 8: 243-250.

96. Tabachnick W.J. - Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *J. Med. Entomol*, 2003, 40: 597-606.

97. Target G, Drakeley C, Jawara M, Von Seidlein L, Cole-Man R et al.- Artesunate reduces but does not prevent post-treatment transmission of *Plasmodium falciparum* to *Anopheles gambiae*. *J. Inf. Dis.*, 2001, 183: 1254-1259.

98. Taylor L.H and Read A.F. - Why so few transmission stages? Productive restraint by malaria parasites. *Parasitol today*, 1997, 13: 135-140.
99. Tchuinkam Timoléon : Etude du pouvoir infectant des porteurs de gamétocytes de *Plasmodium falciparum* pour *Anopheles gambiae* en zone d'endémie palustre, Yaoundé (Cameroun). *Thèse 3ème cycle (Biologie animale)*.1993.
100. Tchuinkam T, Mulder B, Dechering K, Verhave J.P, Cot M *et al.*- Experimental infections of *Anopheles gambiae* with *Plasmodium falciparum* of naturally infected gametocyte carriers in Cameroon : factors influencing the infectivity to mosquitoes. *Trop. Med Parasitol*, 1993, 44: 271-276.
101. Touré Y T, Doumbo O, Touré A, Bagayoko M, Dolo A and *al.* - Gametocyte infectivity by direct mosquito feeds in area of seasonal transmission: Implications for Bancoumana as a transmission blocking vaccine site. *Am. J. Trop. Med Hyg.* 1998, 59 (3) pp 481-486.
102. Touré Y.T, Petrarca, V, Traoré S. F, Coulibaly A, Maiga H. M, Sankare, O, Sow, M., Di Deco, M.A, and Coluzzi, M., The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parasitologia* 1998 **40** (4), 477.
103. Touré Y.T., *et al.*, Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae* s.s in Mali, West Africa. *Genetica*, 1994. **94**(2-3): p. 213-23.
104. Touré Y T.- Bioécologie des *Anopheles* (Diptera, Culidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali, Banambani et incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft. *Thèse 3ème cycle en biologie animale, option entomologie, Centre Pédagogique Supérieur, Bamako, Mali.* 1979.
105. Traore M B,- Etude des cellules gamma delta T dans la protection contre le paludisme dans une cohorte d'enfants d'une zone d'endémie palustre au Mali. *Thèse de Médecine*, Mars 2011.
106. Trape J.F, 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.

107. Van Den Berghe L, Chardome M and Peel E. - Supériorité des préparations de scarification du derme sur les préparations de sang périphérique pour le diagnostic de malaria. *Anais do Inst Med Trop*, 1952, 9: 553-563.
108. Vanderberg J.P, Nussenzweig R.S and Most H. - Protective immunity produced by the injection of X irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*. V) *In vitro* effects of immune serum on sporozoites. *Milit Med*, 1969, 134: 1183-1190.
109. Vaughan J.A, Noden B.H and Beier J.C. - Prior blood feeding effects on susceptibility of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) to infection with cultured *Plasmodium falciparum* (Haemosporida: Plasmodiidae). *J Med Entomol*, 1994, 31: 445-449.
110. Vaughan J.A, Wirtz R.A, Do Rosario V.E and Azad A.F. - Quantitation of anti-sporozoite immunoglobulins in the hemolymph of *An. stephensi* after blood feeding. *Am J Trop. Med Hyg*, 1990, 42: 10-16.
111. Vaughan J.A and Azad A.F. - Passage of host immunoglobulins G from blood meal into haemolymph of selected mosquito species. *J Med Entomol*, 1988, 25: 472-474.
112. Vaughan JA, Do Rosario V, Leland P, Adjepong A, Light J *et al.* - *Plasmodium falciparum*: Ingested anti-sporozoite antibodies affect sporogony in *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Exp. Parasitol*, 1988, 66: 171-182.
113. Verhave J.P, Fass B, Tchuinkam T, Arens T and Robert V. - Detection of *Plasmodium falciparum* gametocytes by quantitative buffy coat (QBC) analysis. *Ann Trop Med Parasitol*, 1995, 89 : 214.
114. Vernick K.D, Fujioka H, Seeley D.C, Tandler B, Aikawa M and Miller L.H.- *Plasmodium gallinaceum*: a refractory mechanism of ookinete killing in the mosquito, *Anopheles gambiae*. *Exp Parasitol*. 1995, 80: 583-95.
115. Von Seidlein L, Drakeley C, Greenwood B, Walraven G, and Targets G.R.- Factors for gametocyte carriage in Gambia children. *Am J Trop. Med. Hyg*. 2001, 65: 523-527.

116. White N.J.- Antimalarial drug resistance and combination chemotherapy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1999a, 354: 739–749.

117. White N.J. - Delaying antimalarial drug resistance with combination chemotherapy. *Parasitologia.* 1999b, 41 : 301-308.

ANNEXES

- ❖ Numéroté les tubes PCR (0.2ml) correspondant au nombre de moustiques à traiter.
- ❖ Mettre dans chaque tube une patte de moustique tout en prenant soin de relever dans un registre les références (étiquette) du moustique devant le numéro qui lui correspond.
- ❖ Mettre dans chaque tube 24µl de mixture et s'assurer que la patte est complètement submergée dans la mixture.
- ❖ Utiliser un contrôle positif pour M, A, S et un contrôle négatif.

- ❖ Placer les tubes à -20°C et attendre à ce que la solution se congèle.
- ❖ Programmer la machine (programmable thermal Controller) au cycle d'amplification et attendre 94°C. Introduire les micros tubes (0.2) contenant les réactifs nécessaires aux différentes réactions, puis lancer la machine.
- ❖ Attendre à ce que la machine affiche sur l'écran FOR EVER ou 4°C.
- ❖ Reprogrammer la machine à 37°C et ajouter 0.65µl de l'enzyme de digestion Hha I et attendre 6 heures avant de les faire migrer à l'électrophorèse ou bien de les garder à 4°C pour une migration prochaine.

Tableau XXI : Composition des réactifs nécessaires pour la mixture à l'identification des espèces et des formes moléculaires d'*An. gambiae s.l.*

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales
PCR buffer(tampon)	10 X	1 X
dNTPs	50 mM	2.5 mM
Mgcl2	50 mM	2.5 mM
GA	20 ng/µl	6.25 ng
AR	20 ng/µl	18.75 ng
UN	20 ng/µl	12.5 ng
Taq polymerase	5U /µl	0.9 U

Cycle d'amplification

1. 94 °C pendant 7mn
2. 94 °C pendant 30 s
3. 50 °C pendant 30 s
4. 72°C pendant 30 s
5. 72°C pendant 7mn
6. 4°C température de conservation des amplifiants

Ce cycle est répété 29 fois à partir de l'étape 2.

- ❖ **Séquence nucléotidique des différentes amorces pour l'identification des espèces et formes moléculaires**

AG (*gambiae*) 5'-CTGGTTTGGTCGGCACGTTT - 3'

AR (*arabiensis*) 5'-AATTGTCCTTCTCCATCCTA - 3'

UN (universel) 5' -GTGTGCCCTTCCTCGATGT- 3'

❖ Electrophorèse de L'ADN

Préparation du Gel et Interprétation des bandes

Nous avons préparé un gel d'agarose à 2% sur lequel 10µl d'ADN mélangés à 2µl de Dye (100ml d'H₂O stérile + 46g de sucrose + 0.25g de bleu de bromophenol) ont été logés par puits.

La migration a été conduite dans un bac électrophorétique à l'aide d'un générateur (Electrophoresis power supply-EP301) sous un courant de 150 volts pendant 1 heure.

Après migration, les bandes ont été visualisées sous une lampe UV et photographiées à l'aide d'une caméra quik shooter (IBI, model QSP/Hood # 14, catalog N° 46420).

L'interprétation a consisté à identifier les espèces et leurs formes moléculaires par comparaison de leur taille en base paire (bp) à celle du marqueur moléculaire (100 bp DNA Ladder, Invitrogen Ready load).

Ainsi on a : 367 bp (*An. gambiae* forme M), 257 bp (*An. gambiae* forme S), 292 bp (*An. arabiensis*).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

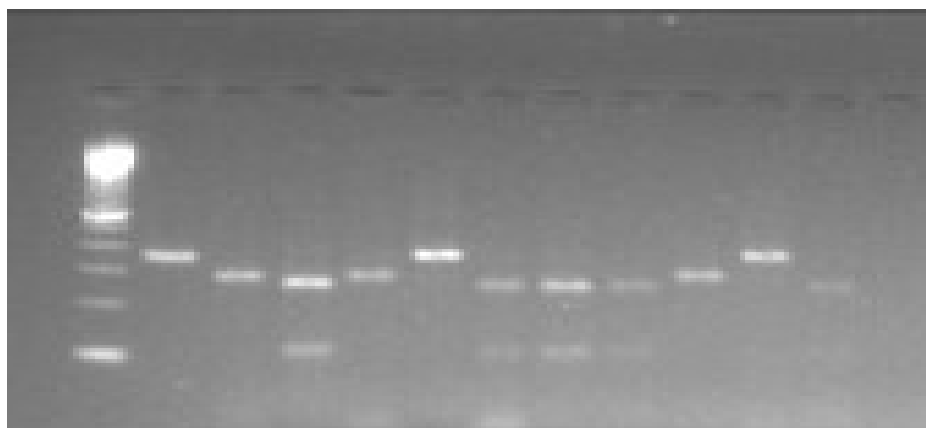


Figure 20: Identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.

❖ **Légende :**

- 1 : Marqueur moléculaire 100bp
- 2 : Contrôle positif forme M (espèce A)
- 3 : Contrôle positif d'*An. arabiensis* (espèce B)
- 4 : Contrôle positif forme S (espèce A)
- 5, 10 : *An. Arabiensis* (espèce B)
- 6, 11 : forme M (espèce A)
- 7, 8, 9, 12 : forme S (espèce A)
- 13 : Contrôle négatif.

II- Protocole d'identification de nouvelles émergences à la PCR

Technique d'anesthésie: Diéthyl éther

- Couper un tube eppendorf 1.5 ml au milieu avec une lame rigide ;
- Recouvrir le tube avec un morceau de tuile moustiquaire ;
- Puis l'emballer avec un scotch transparent ;
- Placer deux tampons de coton dans un autre tube Falcon de 50ml ;

- A l'aide de poire, mettre 5 à 10ml du diéthyl éther dans le tube Falcon de 50ml, puis fermer ;
- Aspirer chaque moustique individuellement pour mettre dans le tube eppendorf 1.5ml, ensuite fermer ;
- Mettre le tube eppendorf contenant du moustique dans le grand tube Falcon de 50 ml contenant du diéthyl éther pendant 2 à 3 secondes ;
- Etaler le moustique anesthésié sur une lame porte objet sous la loupe binoculaire ;
- Couper une patte latérale au milieu et la mettre dans le tube PCR avec son numéro (Exemple : M1, M2, M3, ... Mⁿ et F1, F2, F3,Fⁿ) M= Mâle et F= Femelle;
- Chaque patte coupée prend le numéro d'identification de son moustique (Exemple : tube N°1 → M1 ou F1 et tube N^{on} → Mⁿ ou Fⁿ);
- Ainsi les pattes coupées sont traitées à la PCR pour l'identification des formes moléculaires (M; A; S) ;
- Tous les moustiques identifiés de même formes sont mis ensemble dans la même cage ;
- Les formes ainsi obtenues seront maintenues dans les conditions de laboratoires pour séances d'infestation expérimentales.

III- Fiche de dissection

FICHE DE DISSECTION DES MOUSTIQUES D'INFESTATION EXPERIMENTALE

Localité : Date d'émergence : Date du repas de sang : Identification du moustique : N° du Groupe : N° de famille :	Date dissection : Identification du porteur : Charge gamétocytaire : Charge parasitaire : Nombre de femelle non gorgées :
---	---

N° Ordre	Oocyste +/-	Charge oocyste	Abdomen stade	Observation	DNA
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

IV- Fiche d'identification des porteurs de gamétocytes

FICHE D'IDENTIFICATION DU PORTEUR DE GAMETOCYTES

Infestation N°: ____/ Porteur: ____/ Date: /__/__/__/

Nom : _____ Prénom : _____ Sexe : M/__/ F/__/

Village : _____ Age : _____ ans Poids : _____ Kg

Habitat :

Adresse : _____

Type de maison : Tôle /__/ Paille /__/ Terre /__/

Moustiquaire : Oui / __ / Non / __ /

Goutte épaisse : Tropho : Oui / __ / Non / __ / Densité/μl : _____ tropho/μl

Gaméto : Oui / __ / Non / __ / Densité/μl : _____ gaméto/μl

Informations médicales :

Symptômes cliniques du palu : Oui / __ / Non / __ /

Si oui spécifiez : _____

Température : _____ °C

Episode récent de paludisme ? Oui / __ / Non / __ /

Diagnostic : 1-Présomption : Oui / __ / Non / __ /

2-Microscopique : Oui / __ / Non / __ /

Traitement du paludisme dans les 15 derniers jours ? Oui / __ /, Non / __ /

Si Oui spécifiez : _____

Bon état de santé ? Oui / __ / Non / __ /

Anémie (Hémocue) : _____

Consentement éclairé : Oui / __ / Non / __ /

Signature du parent : Oui / __ / Non / __ /

Autre : _____

Inclusion : Oui / __ / Non / __ /

Code : ML: _____ /

Prélèvement pour DMFA : Oui / __ / Non / __ /

Date : / __ / __ / __ / Heure & minutes : ____ / H ____ / mn Volume prélevé : ____ ml

V- Fiche de l'infestation expérimentale

DATE INFESTATION: / ____ / ____ / ____ /

Nom et Prénoms	A	Chef de	N°	Charge
	ge	famille	STDN	gaméto

SERMENT

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté et de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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 !