

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
UN peuple - Un But - Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES DES
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES
DE BAMAKO



FACULTE DE MEDECINE ET
D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2020-2021

N°.....

Thèse

**ETUDE DE LA TRANSMISSION DU PALUDISME A
PLASMODIUM FALCIPARUM MESUREE PAR
GORGEMENT DIRECT SUR LA PEAU DES
VOLONTAIRES DE 5 ANS ET PLUS A BANCOUMANA
ET DONEGUEBOUGOU AU MALI.**

Présentée et soutenue publiquement le 12/11/2021 devant la
Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie.

Par M. Mahamane TANGARA

Pour obtenir le grade de Doctorat en Médecine

(DIPLOME D'ETAT)

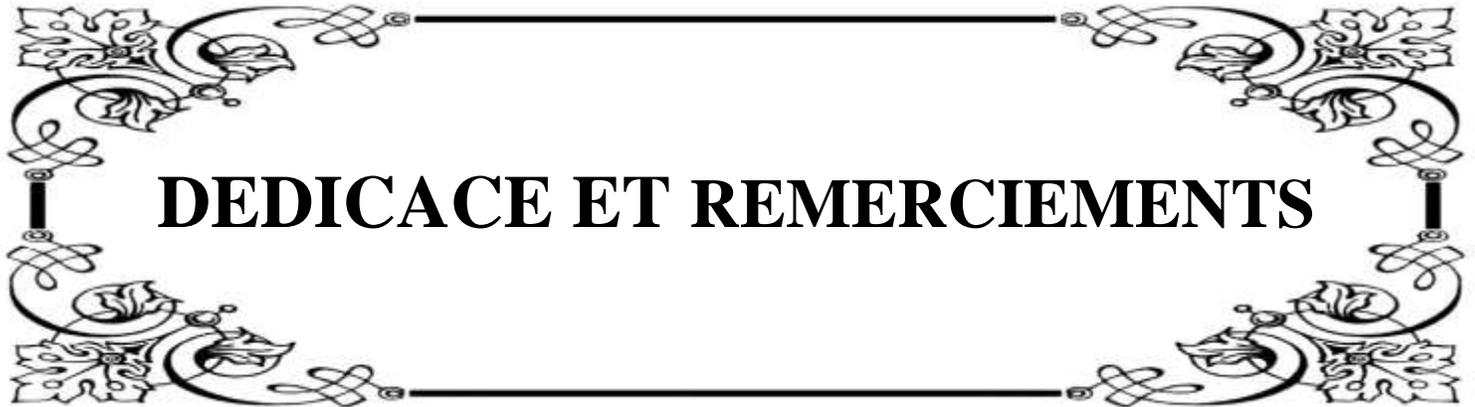
Jury

Président du jury : Pr Mahamadou Ali THERA

Membre : Pr Kassoum KAYENTAO

Co-directeur de thèse : Dr Amatigue ZEGUIME

Directeur de thèse : Pr Issaka SAGARA



DEDICACE ET REMERCIEMENTS

A la mémoire de mes grand-mères paternelles,

qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ce travail.
Que Dieu, le Tout puissant, vous couvre de Sa Sainte miséricorde et vous accueille dans
Son éternel paradis.

A Allah

Créateur de la terre et des cieux, Tu as voulu
et Tu as permis que ce jour arrive. Par Ta miséricorde,
Ta bonté et Ta grâce Tu m'as assisté tout au long de ma vie.
Je Te prie d'accepter ce modeste travail en témoignage
de ma reconnaissance et de ma foi.

A tous les Professeurs responsables de cours à la FMOS (Faculté de Médecine et d'Odonto-
Stomatologie), pour la qualité de l'enseignement que nous avons reçu.

A Dr Amatigué ZEGUIME sans votre soutien et votre engagement, ce travail n'aurait pu
être réalisé, les mots me manquent pour vous exprimer toute ma reconnaissance, je vous dis
un grand merci et que Dieu vous garde auprès de nous.

A mes très chers parents Yaya et Hatouma TRAORE,

Aucun mot ne saurait exprimer ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance envers
les deux personnes les plus chères à mon cœur ! Si mes expressions pourraient avoir
quelque pouvoir, j'en serais profondément heureux. Je vous dois ce que je suis. Vos prières
et vos sacrifices m'ont comblé tout au long de mon existence. Puisse Dieu Tout puissant
vous procurer santé, bonheur et prospérité.

A mon cher frère **Tiécoro**, toi qui a guidé mes pas depuis tout petit en me montrant les
bonnes voies à prendre. Je ne saurais te remercier assez de m'avoir ouvert la voie. Que Dieu
te récompense.

A mon petit frère et toutes mes sœurs

Vous m'avez soutenu et comblé tout au long de mon parcours. Que ce travail soit le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux. Puisse Dieu vous procurer bonheur et prospérité.

A Ma grande mère maternelle, que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Tous les mots ne sauraient exprimer l'amour, le respect et la reconnaissance sincère que j'ai pour vous. Sans vous, je ne pourrais survivre dans ce monde si cruel. Que Dieu vous accorde une longue vie et préserve votre santé. Pour votre soutien inconditionnel et votre affection. Votre amour de tous les instants .En témoignage à mon attachement et ma gratitude. Pour tous les moments partagés, pour le bonheur et la complicité. Je vous dédie ce travail, la prunelle de mes yeux.

A la famille **NIARE** au Point G, vous qui m'avez donné tout votre soutien dans les moments difficiles au cours de ces années d'étude. Je ne saurais exprimer toutes vos grâces. Que Dieu vous en récompense au centuple.

A toute la famille TANGARA

Vous m'avez soutenu et comblé tout au long de mon parcours. Que ce travail soit témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux. Puisse Dieu vous procurer bonheur et prospérité.

A mon cher tonton **Youssouf TANGARA**, Je ne saurais vous remercier de vos bienfaits en présence et à l'insu de mes parents. Puisse Dieu vous procurer bonheur et prospérité.

A ma bien aimée Ténimba COULIBALY

Tu as su me supporter pendant cette période si difficile. Tu m'as accepté tel que je suis et malgré ma situation socio-économique difficile. Saches que je n'oublierai jamais ton aide et l'amour que tu m'as apporté. Je prie le bon Dieu pour qu'il te donne une longue vie et beaucoup de Sa grâce.

A tous mes chers amis

Pour les moments inoubliables que nous avons passé ensemble, à nos éclats de rire, à nos moments de réussite, et d'échec, ensemble on a cheminé dans cette faculté, nous avons bravé ensemble les difficultés et nous nous sommes toujours soutenus, merci pour tous ses merveilleux souvenirs, merci d'être de vrais amis pour moi, merci de m'avoir largement encouragé, merci à Dieu d'avoir croisé nos chemins, vous marquerez à jamais ma vie entière. Je prie le Tout puissant de m'aider pour préserver cette fraternité et cet amour aussi longtemps que possible.

A toute la dixième promotion du Numéris clausus (Promotion feu Mahamadou TOURE), un GRAND merci, recevez par ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

A Dr KATILE, Dr KAMATE, Dr GUINDO, Dr HAIDARA, Dr PEROU, Dr TRAORE, M. TOLO, M. DOUCOURE et toute l'équipe de Donéguébougou, cette thèse a été facilitée par votre appui technique, conseil, encouragement et bienveillance. En dehors du travail votre humanisme fait de vous un modèle. Chers grand frères et collègues, je vous remercie pour tout.

A Mr **Boucary OUOLOGUEM** sans qui je ne serai pas arrivé jusque-là. Vous avez guidé mes premiers pas au sein de l'unité. Vous m'avez initié aux différentes activités de terrain au laboratoire. Vous avez été mon maître et je vous dois toutes mes expériences de laboratoire.

Merci infiniment cher aîné, votre simplicité, votre courtoisie et votre amabilité et vos conseils m'ont permis d'intégrer très vite la vie d'équipe de chercheurs.

A toute l'équipe du CAP-Lab de Donéguébougou, Bancoumana, Sotuba, Ouelessebougou, Immuno Lab et IT. Je vous en suis profondément reconnaissant et soyez rassurés de mon attachement.

Dr Mahamadou Soumana SISSOKO, Dr Mamady KONE, Dr Kourane SISSOKO, Dr Sibiri SISSOKO, Dr Amadou NIANGALY, Dr Balla DIARRA, Dr Karim BENGALY, Dr Seydou TRAORE, Dr Boubacar DEMBELE, Dr Sadio DIARRA, Dr Seydou SANKARE, Dr Adama COULIBALY, Dr Modibo DOUMBIA, Dr Alassane TOGOLA, merci pour vos conseils et votre disponibilité. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je ne saurais terminer cette dédicace sans saluer **Dr Bourama KEITA** qui m'a beaucoup aidé dans l'analyse des données. Merci infiniment et que Dieu vous récompense.



**HOMMAGES AUX
MEMBRES DU JURY**

A notre Maître et Président du Jury

Professeur Mahamadou Ali THERA, MD, MPH, PhD, FAAS

- ✓ **Professeur Titulaire de Parasitologie et Mycologie à la FMOS/USTTB,**
- ✓ **Directeur Scientifique du BMP (Bandiagara Malaria Project),**
- ✓ **Membre de l'Académie des Sciences du Mali,**
- ✓ **Membre de l'Académie Africaine des Sciences,**
- ✓ **Chevalier de l'Ordre National du Mali.**

Cher Maître,

Permettez-nous de vous remercier pour ce grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce travail. Nous avons toujours admiré vos qualités scientifiques et sociales. Vous avez cultivé en nous le sens du travail bien fait et la rigueur scientifique. Recevez ici cher maître toute notre reconnaissance et nos sincères remerciements. Soyez rassurés de notre entière disponibilité.

A notre Maître et Juge,

Pr Kassoum KAYENTAO, MD, PhD,

- ✓ **Maître de Recherche en Biostatistique/Santé publique,**
- ✓ **Responsable adjoint de l'unité Paludisme et Grossesse du MRTC,**
- ✓ **Chercheur-Enseignant à la FAPH/USTTB**

Cher Maître,

Plus qu'un enseignant de mérite, vous êtes un éducateur de choix. Nous avons été impressionnés par vos qualités scientifiques, votre disponibilité et la simplicité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail malgré vos nombreuses occupations. Retrouvez ici cher maître l'expression de nos sincères remerciements.

A notre Maître et Co-Directeur de thèse,

Docteur Amatigué ZEGUIME, PharmD,

- ✓ **Lab manager du laboratoire clinique (CAP-Lab) au MRTC/DEAP,**
- ✓ **Pharmacien chercheur au MRTC/DEAP**

Cher Maître,

Nous vous remercions vivement pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de co-diriger ce travail. Nous sommes très sensibles à votre gentillesse et à votre profond humanisme. Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous exprimer notre admiration ainsi que notre gratitude. Veuillez croire, cher Maître, en nos sentiments les plus respectueux.

A notre Maître et Directeur de thèse,

Professeur Issaka SAGARA, MD, MSPH, PhD,

- ✓ **Maitre de Recherche en Biostatistique/Epidémiologie à la FAPH/USTTB**
- ✓ **Médecin chercheur au MRTC/DEAP/FMOS-FAPH,**
- ✓ **Chef de l'unité Biostatistique et data management au MRTC/DEAP/FMOS-FAPH.**
- ✓ **Investigateur principal (PI) des essais vaccinaux à Bancoumana, Donéguébougou et Sotuba.**

Cher Maître,

Vous nous avez fait un grand honneur en nous acceptant dans votre service et cela, avec la plus grande amabilité qui soit. Soyez-en remercié

Votre simplicité, votre générosité, votre culture scientifique et votre ouverture envers les étudiants, font de vous un homme remarquable et un professeur exemplaire

Sans vos sages conseils, votre disponibilité, votre patience et votre encadrement à hauteur de souhait, ce travail n'aurait pas vu le jour

Veillez agréer honorable Maitre, l'assurance de notre profonde reconnaissance.

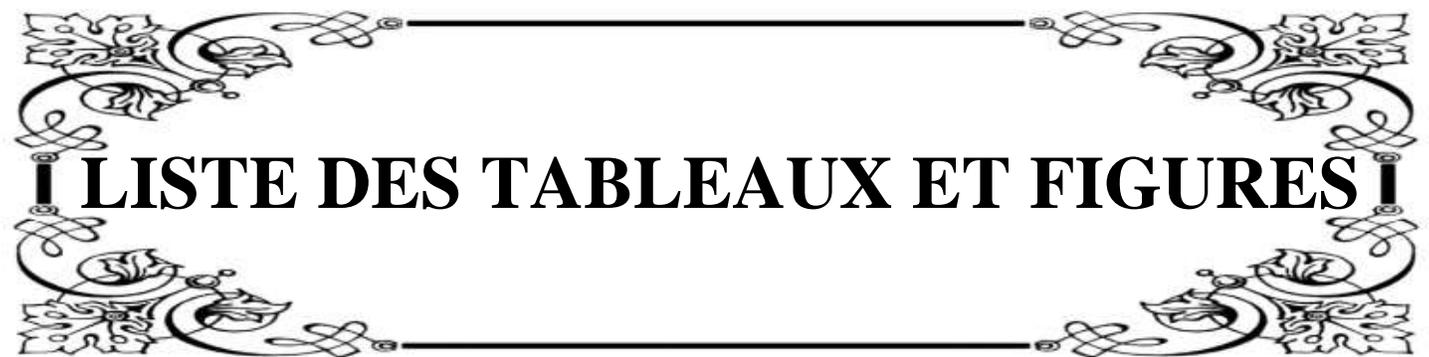


SIGLES ET ABREVIATIONS

µL	Microlitre
ADN	Adénine Désoxyribonucléique
ASAQ	Artésunate Amodiaquine
CPS	Chimioprévention du Paludisme Saisonnier
CTA	Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine
DDT	Dichloro Diphényle Trichloroéthane
DF	Direct Feeding
DMFA	Direct Membrane Feeding Assay
DSF	Direct Skin Feeding ou Gorgement direct sur la peau
EDTA	Ethyle Diamine Tétra Acétique
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
GE	Goutte Epaisse
GPS	Global Positioning System
IGM	Institut Géographique du Mali
IP	Indice Plasmodiale
IRS	Interior Residuel Pulverisation/Pulvérisation Intérieur Résiduelle
IS	Indice Splénique
ITN	Insecticide Trated Net
LMIV	Laboratory of Malaria Immunology and Vaccinology
MGG	May-Grunwald-Giemsa
ml	Millilitre
mm	Millimètre
MRTC	Malaria Research and Training Center
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase Chain Reaction/Réaction des Chaines Polyméras
pH	potentiel d'Hydrogène
PNLP	Programme National de Lutte Contre le Paludisme
PS	Surveillance Parasitaire
qPCR	q Polymerase Chain Reaction
RDT	Rapid Diagnostic Test
SLIS	Système Local d'Information Sanitaire
SMFA	Standard Membrane Feeding Assay

. ETUDE DE LA TRANSMISSION DU PALUDISME A PLASMODIUM FALCIPARUM MESURE PAR GORGEMENT DIRECT SUR LA PEAU DES VOLONTAIRES DE SANS ET PLUS A BANCOUMANA ET DONEGUEBOUGOU AU MALI.

SOP	Standard Operating Procedure/Mode Opérateur Normalisé
SP	Sulfadoxine Pyriméthamine
SST	Serum Separator Tube
TBV	Transmission Blocking Vaccine/Vaccin Bloquant la Transmission
TIE	Taux d'Inoculation Entomologique
USTTB	Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako



I LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES I

TABLEAUX

Tableau I: Répartition des volontaires selon les tranches d'âge et les sites	33
Tableau I: Prévalence du paludisme en Novembre 2018.....	33
Tableau III: Répartition des espèces plasmodiales dans la population d'étude	343
Tableau IV: Répartition de la coinfection des espèces plasmodiales dans la population d'étude.....	33
Tableau V: Taux moyen de la parasitémie à <i>P. falciparum</i> selon les tranches d'âge	35
Tableau VI: Taux moyen de la parasitémie à <i>P. malariae</i> selon les tranches d'âge.....	35
Tableau VII: Taux moyen de la parasitémie à <i>P. ovale</i> selon les tranches d'âge	36
Tableau VIII: La moyenne de la parasitémie à <i>P.falciparum</i> selon le sexe et selon les sites.....	35
Tableau IX: La moyenne de la parasitémie à <i>P.malariae</i> selon le sexe et selon les sites.....	35
Tableau X: La moyenne de la parasitémie à <i>P.ovale</i> selon le sexe et selon les sites	365

LISTE DES FIGURES

Figure 2: Cycle de vie de <i>Plasmodium falciparum</i> (Figure modifiée de Bousema & Drakeley 2011b).	16
Figure 3: Photo montrant une séance du DSF.....	29
Figure 5: Potentiel de transmission mesuré par DSF selon le sexe, la tranche d'âge en 2018 à Bancoumana	38
Figure 6: Potentiel de transmission par DSF selon la parasitémie et la tranche d'âge.....	39
Figure 7 : Potentiel de transmission par DSF selon la présence de signes cliniques de paludisme, le sexe et la tranche d'âge.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 8 : Potentiel de Transmission par DSF selon la gamétocytémie, le sexe et la tranche d'âge	40
Figure 9: Potentiel de transmission mesure par DSF selon le sexe, la tranche d'âge en 2019 à Bancoumana	41
Figure 10 : Potentiel de transmission par DSF selon la parasitémie et la tranche d'âge	42
Figure 11: Potentiel de transmission par DSF selon la gametocytemie, le sexe et la tranche d'âge.	43
Figure 12: Potentiel de transmission par DSF selon la présence de signes cliniques du paludisme, le sexe et la tranche d'âge.	44
Figure 13: Potentiel de transmission mesuré par DSF selon le sexe, la tranche d'âge en 2019 à Donéguébougou.	45
Figure 14: Potentiel de transmission par DSF selon la parasitémie et la tranche d'âge	46
Figure 15: Potentiel de transmission par DSF selon la gametocytemie, le sexe et la tranche d'âge.	47

Figure 16: Potentiel de transmission par DSF selon la présence de signes cliniques de paludisme, le sexe et la tranche d'âge.**Erreur ! Signet non défini.**

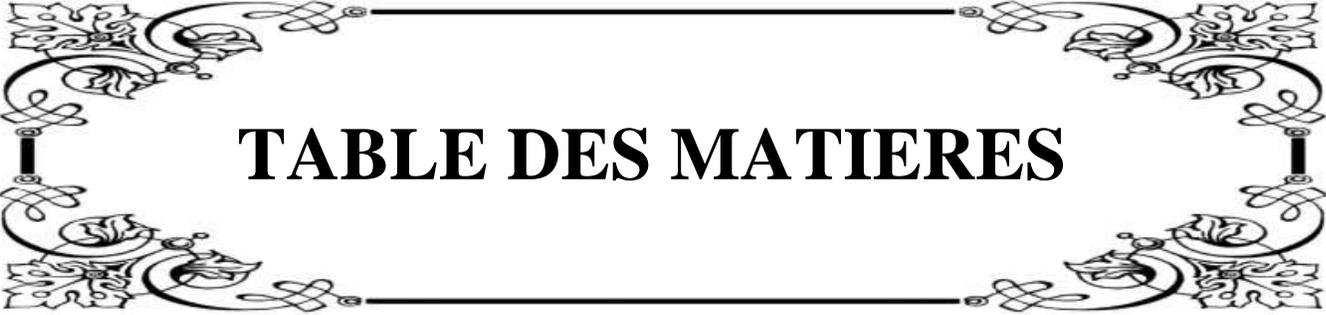
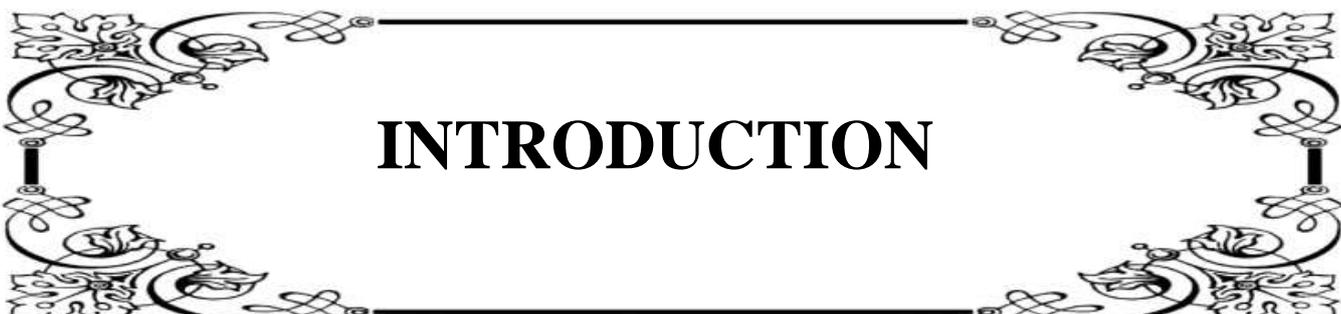


TABLE DES MATIERES

Table des matières

I. INTRODUCTION.....	2
II-OBJECTIFS	6
2.1. OBJECTIF GENERAL	6
2.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES.....	6
III-GENERALITES	8
1.1 A-LE PALUDISME.....	8
1. Historique	8
2. Epidémiologie	10
3. Causes.....	14
B. LA TRANSMISSION DU PALUDISME.....	16
IV-METHODOLOGIE	20
1. Lieu d'étude:	21
2. Population et Période d'étude	22
a. Population d'étude.....	22
b. Période de recrutement.....	22
c. Conception de l'étude.....	22
d. Durée de l'étude	22
3. Critères d'inclusion des volontaires	23
4. Critères de non inclusion des volontaires.....	24
5. Calendrier de l'Etude	25
6. Visites mensuelles.....	25
7. Considérations éthiques :	29
V. RESULTATS	32
VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS	49
ANNEXES	54
1. Procédures standard opératoires (SOP) de la goutte épaisse.....	54



INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Le paludisme est la première endémie parasitaire mondiale et constitue un problème majeur de santé publique. Selon le rapport 2020 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre total de cas a légèrement augmenté, passant de 155 millions à 156 millions en 2019. Alors que les nombres de cas ont diminué de 1,2 million en Inde et de 800 000 au Mali, ils ont en revanche augmenté au Nigeria (2,4 millions) et en République Démocratique du Congo (1,2 million) durant les deux dernières années. Le nombre de décès a diminué dans les 11 pays (Dix pays d'Afrique subsaharienne : Burkina Faso, Cameroun, République démocratique du Congo, Ghana, Mali, Mozambique, Niger, Nigéria, Ouganda et République-unie de Tanzanie, ainsi que l'Inde), passant de 263 000 en 2018 à 226 000 en 2019 (1). Le paludisme est la première cause de morbidité et de mortalité au Mali. Au niveau mondial, le Mali fait partie des dix pays où le nombre de cas et de décès du paludisme est le plus élevé (3 % des cas et des décès dans le monde, et 6 % des cas d'Afrique de l'Ouest) (2). Selon l'annuaire statistique du Système Local d'Information Sanitaire (SLIS 2018), un total de 3 572 794 cas suspects ont été enregistrés. Parmi ces cas suspects 3 457 267 (97%) ont été testés et 2 345 481 (66%) cas testés ont été confirmés (3). Bancoumana est une région d'endémie palustre. Une étude de cohorte menée de février 2018 à janvier 2020 montre que le taux d'incidence du paludisme clinique à tous les âges était de 0,63 (505/801,9) par personne-année, 0,34 (46/134,75) pour les enfants de moins de cinq ans, 0,74 (162/219,1) pour les 5 à 10 ans, 0,88 (174/198,25) pour les 11-17 ans et 0,49 (123/249,8) pour ≥ 18 ans). En 2019, le taux d'incidence du paludisme clinique à tous les âges était de 0,76 (573/753,45) par personne et par an : 0,53 (52/97,33) pour les enfants de moins de cinq ans, 0,89 (204/229,32) pour les 5-10 ans, 0,99 (207/209,54) pour les 11-17 ans et 0,51 (110/217,26) pour ≥ 18 ans. L'incidence du paludisme est très saisonnière et continue d'être élevée dans la population générale de la zone d'étude, avec les charges les plus lourdes chez les enfants âgés de 5 à 17 ans. L'incidence plus faible chez des enfants de moins de cinq ans s'explique probablement par la chimioprévention saisonnière du paludisme distribuée pendant la haute saison de transmission du paludisme (août à novembre). L'incidence du paludisme est élevée en 2019 par rapport à l'année 2018 ($p=0,015$). Ces tendances saisonnières et par âge de la charge de morbidité due au paludisme devraient être prises en compte lors de l'évaluation de nouvelles interventions telles que les vaccins ou d'autres nouvelles stratégies de lutte (4).

Donéguébougou se trouve dans une zone holoendémique où la transmission du paludisme est

très saisonnière, généralement de juin à décembre. Depuis 2014, les enfants de moins de cinq ans reçoivent une chimioprévention saisonnière contre le paludisme (sulfadoxine-pyriméthamine mensuelle + amodiaquine). Selon une étude en 2019, les enfants de moins de cinq ans représentaient 18%, les 5-12 ans 28%, les 13-18 ans 20% et les >18 ans 34%. *Plasmodium falciparum* était l'espèce la plus fréquemment rencontrée avec 94,4% des frottis sanguins positifs, tandis que 3,9% rapportaient une présence de *Plasmodium malariae*. Au total, 22% des sujets portaient des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*, 7% chez les moins de cinq ans, 23% chez les 5-12 ans, 31% chez les 13-18 ans et 22% chez les >18 ans. Cette incidence plus élevée de la parasitémie du paludisme chez les enfants plus âgés par rapport aux plus jeunes peut refléter un changement dans une zone recevant la chimioprévention saisonnière de paludisme et devrait continuer à être surveillée (5).

Face à ce fléau mondial, depuis plusieurs années, des moyens de lutte et de prévention ont été initiés par l'OMS et adoptés par les programmes nationaux de lutte contre le paludisme en vue de l'élimination et de l'éradication de la maladie. Le Mali s'est doté d'un Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) en 1993 et qui, depuis sa création a entrepris la mise à échelle des mesures de lutte recommandées par l'OMS dont la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) chez les enfants de 3 à 59 mois (6). En effet, l'OMS a recommandé en 2012 la CPS comme politique de lutte contre le paludisme dans les pays à transmission saisonnière (7). Le Mali a introduit en 2012 la CPS à travers le Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique avec l'aide de ses partenaires au développement et s'est engagé à mettre en œuvre progressivement cette stratégie en vue de couvrir tout le pays (6). Des essais cliniques au Mali (8), au Burkina Faso (9) ainsi que dans d'autres pays de la sous-région africaine du Sahel ont montré une diminution de l'incidence du paludisme de 44% à 32% chez les enfants de 3 à 59 mois suite à l'utilisation de la CPS.

Les campagnes d'éradication menées contre le paludisme ont connu des échecs du fait de la complexité du cycle de vie du *Plasmodium*, de sa résistance aux antipaludiques, des échecs observés dans la lutte anti-vectorielle et la compréhension incomplète des paramètres immunitaires assurant la protection contre la maladie. Le développement d'un vaccin antipalustre est l'outil qui permettrait le contrôle de l'infection voire même son éradication. De nos jours pratiquement tous les médicaments antipaludiques semblent être touchés à des degrés différents par la chimiorésistance qui s'étend géographiquement et en intensité (10).

Les vaccins constitueront à cet effet un outil essentiel de lutte contre ce fléau. Les efforts de développement de vaccin antipaludique se sont concentrés essentiellement sur trois étapes du cycle biologique de *P. falciparum* qui sont: la phase hépatique (l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes), la phase érythrocytaire (l'invasion des hématies par les mérozoïtes) et les vaccins bloquant la transmission.

Au Mali il y a peu d'étude sur la transmission du paludisme à *Plasmodium falciparum* mesurée par gorgement direct sur la peau. Ainsi, en perspective à la conduite d'essais de vaccin bloquant la transmission, nous avons entrepris une étude sur deux sites retenus pour ces essais cliniques de vaccins bloquant la transmission, où nous avons évalué la dynamique communautaire de la transmission du paludisme à *Plasmodium falciparum*, en l'occurrence à Bancoumana et à Donéguébougou au Mali.



OBJECTIFS

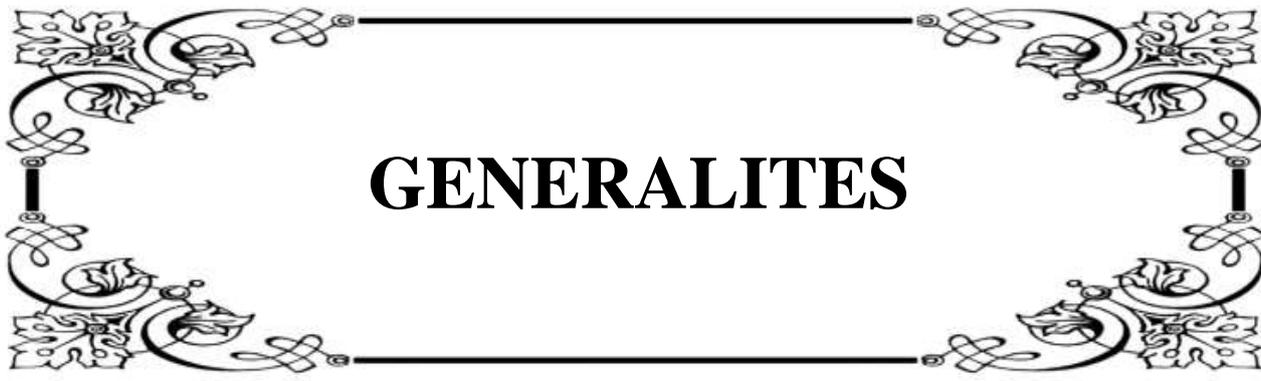
II-OBJECTIFS

2.1. OBJECTIF GENERAL

Evaluer la dynamique communautaire de la transmission du paludisme mesurée par gorgement direct sur la peau des sujets d'au moins 5 ans à Bancoumana et Donéguébougou.

2.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Déterminer la prévalence du paludisme à Bancoumana et Donéguébougou,
- Calculer la moyenne de la parasitémie à Plasmodium dans les tranches d'âge selon le sexe et l'espèce plasmodiale,
- Déterminer le taux de transmission du paludisme mesuré par gorgement direct sur la peau en fonction de la charge parasitaire et selon les groupes d'âge et le sexe.



GENERALITES

III-GENERALITES

3.1 A-LE PALUDISME

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante dû à la présence et à la multiplication dans le sang d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique du genre *Anopheles*. Six (6) espèces plasmodiales sont à ce jour retrouvées chez l'homme :

- *Plasmodium falciparum*,
- *Plasmodium malariae*,
- *Plasmodium ovale*,
- *Plasmodium vivax*,
- *Plasmodium knowlesi*,
- *Plasmodium cynomolgi*.

De toutes les espèces inféodées à l'homme, *Plasmodium falciparum* est le plus létal et le plus répandu en Afrique subsaharienne. L'anophèle femelle est le vecteur exclusif de la maladie à transmission strictement interhumaine. Sur plus de 500 espèces d'anophèles connues, près d'une cinquantaine sont capables de transmettre le *Plasmodium* (11). En zone subtropicale, deux (02) principales espèces sont incriminées dans la transmission du paludisme (12):

- *Anopheles gambiae*,
- *Anopheles funestus*.

1. Historique

C'est la fièvre qui prédomine dans les observations cliniques de cette maladie à travers l'histoire et c'est la quinine qui, à partir de 1663, fera l'unanimité pour la combattre.

Hippocrate, médecin grec de l'antiquité (IVème siècle avant J.-C.) a donné une description extrêmement précise de l'accès fébrile et de sa périodicité ; ces fièvres périodiques sont aussi citées par les Egyptiens. Les Chinois, quant à eux, donnent de l'accès une description particulièrement imagée faisant se succéder au chevet du patient, des démons armés du brasero, du marteau et de la marmite d'eau froide.

Les noms donnés officiellement à l'infection plasmodiale, Malaria (en italien : mauvais air), fièvre des marais ou paludisme (du latin palus: marais), évoquent toute la responsabilité des eaux de surface.

Ce sont les Jésuites installés en Equateur, Amérique Latine, qui remarquent que les mineurs indiens mâchaient l'écorce d'un certain arbre lorsqu'ils sentaient venir les frissons. Ils transfèrent cette observation au Pérou où le nom de la princesse de Cinchon, qui en reçoit la bienfaisante action lors d'un accès fébrile, sera donné au genre botanique (*Cinchona*).

Au temps de Louis XIV, un apothicaire anglais du nom de Talbot détient le secret d'une préparation à base de quinquina : ce sera la panacée.

Pelletier et Caventou isolent le principe actif, la quinine, en 1870. En 1880, Laveran décrit le parasite à Constantine, Algérie.

Le rôle du moustique des marécages est évoqué par Lancisi en 1717 : le poison serait concentré par le moustique dans ses pièces buccales.

La preuve expérimentale est apportée par Ross en 1897.

Chez l'homme, la transmission expérimentale est réussie par Grassi à Rome en 1898 qui, après s'être acharné à nourrir sans succès des *Culex*, essaye par hasard des *Anophèles* qui permettent enfin d'observer des formes sporogoniques de *P. falciparum* et de *P. vivax*.

Le cycle complet du parasite chez l'*Anophèles* est décrit en Italie par Bignami et Grassi en 1898 (13).

Jusqu'en 1935, on se contente de la quinine comme traitement du paludisme : c'est un bon médicament, fiable, bon marché et peu toxique. Il faut attendre les guerres, accompagnées de difficultés d'approvisionnement en écorce de quinquina, pour voir la recherche thérapeutique se mettre en action.

En 1939, Muller décrit les propriétés insecticides du Dichloro Diphényle Trichloroéthane (DDT). Cette découverte, avec celle de la chloroquine, amène l'espoir de pouvoir un jour se débarrasser du paludisme à l'échelle de la planète et, entre 1950 et 1970, l'OMS lance le programme global d'éradication du paludisme ("*le monde uni contre le paludisme*").

Dès avant 1960, certains *Anopheles* deviennent résistants au DDT. Les produits de remplacement sont plus chers, parfois plus toxiques et moins efficaces.

Entre 1962 et 1970, l'apparition dans certaines régions du monde, de souches de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine relance la recherche de nouvelles molécules actives, mais les résultats sont assez décevants.

Sans que les phénomènes de résistances en soient la cause exclusive, l'échec de l'éradication est reconnu à partir de 1970 et on ne parle plus que du "contrôle".

Il faut alors songer à un nouveau moyen de protection... (14).

L'utilisation des Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine CTA est recommandée par l'OMS depuis 2004. En cas de paludisme grave, le traitement se fera par les sels de quinine en perfusion intraveineuse ou par les dérivés de l'artémisinine.

Les options thérapeutiques actuellement recommandées par l'OMS sont les suivantes :

- **artéméther-luméfantrine** (Coartem®),
- **artésunate plus amodiaquine** (ASAQ®, dans les zones où le taux de succès thérapeutique de l'amodiaquine en monothérapie est supérieur à 80%),
- **artésunate plus sulfadoxine-pyriméthamine** (Artecon®, dans les zones où le taux de succès thérapeutique de la SP en monothérapie est supérieur à 80%).

Au Mali, l'association sulfadoxine-pyriméthamine (SP) est actuellement préconisée pour le traitement intermittent préventif chez les femmes enceintes.

- **artésunate plus méfloquine** (données de toxicité insuffisantes pour recommander son utilisation en Afrique) : est contre-indiquée en cas d'épilepsie (15).

2. Epidémiologie

Le paludisme par sa fréquence et sa gravité, demeure encore de nos jours l'un des problèmes de santé publique les plus importants des pays du monde tropical. La période entre 2000 et 2019 connaît une diminution marquée de la mortalité et de l'incidence des cas de paludisme dans le monde. Le taux d'incidence des cas de paludisme (cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme) est passé de 80 en 2000 à 57 en 2019. Le nombre total de cas de paludisme a diminué, passant de 238 millions en 2000 à 229 millions en 2019. Durant cette même période, la population de l'Afrique subsaharienne, qui cumule plus de 90 % de la charge mondiale du paludisme, est passée de 665 millions à plus d'un milliard d'habitants. Le taux d'incidence de la mortalité (décès pour 100 000 habitants exposés au risque de paludisme) a diminué de 25 en 2000 à 10 en 2019. Le nombre total de décès liés au paludisme a diminué, passant de 736 000 en 2000 à 409 000 en 2019. Toutes les régions de l'OMS ont enregistré une réduction de l'incidence des cas de paludisme et de la mortalité associée depuis 2000 (1). Le paludisme continue de frapper majoritairement les femmes enceintes et les enfants, en particulier en Afrique. Faute de traitement, le paludisme durant la grossesse peut entraîner la mort de la mère, ainsi que l'anémie et un faible poids à la naissance de l'enfant, une cause majeure de mortalité infantile. En 2019, environ 11,6 millions de femmes enceintes vivant dans 33 pays d'Afrique où la transmission est modérée à élever étaient infectées par le paludisme (35 % de toutes les grossesses). En conséquence, on estime à 822 000 le nombre d'enfants nés en insuffisance pondérale dans ces pays (1).

Dans une population donnée, un certain nombre de paramètres paludométriques permettent de quantifier rapidement la situation épidémiologique du paludisme à savoir :

- **L'indice sporozoïtique:** C'est le pourcentage d'*Anopheles* femelles présentant des sporozoïtes dans les glandes salivaires.

- **L'indice d'anthropophile:** C'est le pourcentage d'*Anopheles* femelles fraîchement gorgées avec du sang humain.

- **Le taux d'inoculation entomologique (TIE):** C'est le nombre moyen de piqûres infectantes reçues par un homme par unité de temps.

- **L'indice splénique (IS):** Il correspond au nombre de grosses rates palpées chez 100 sujets examinés.

- **L'indice plasmodique (IP):** Correspond au nombre de personnes présentant des parasites dans le sang par rapport à 100 sujets examinés (16).

Classification des situations épidémiologiques

Il existe différentes sortes de paludisme que l'on peut différencier en six classes ou faciès.

Le faciès épidémiologique est une aire géographique où le paludisme présente un profil caractéristique en terme de transmission, d'endémicité, de développement, de la prémunition et en terme d'impact sur la population.

➤ Différents faciès épidémiologiques du paludisme

- L'endémicité, qui se rapporte à un degré de prévalence incluant fréquence et intensité des infections.

- L'épidémie, qui consiste en une augmentation soudaine et importante de la morbidité et de la mortalité dues au paludisme.

- Le paludisme autochtone, qui est contracté sur place.

- Le paludisme importé, qui est une infection contractée en dehors de la zone concernée.

- Le paludisme introduit, qui est une infection contractée localement à partir des cas importés.

- Le paludisme sporadique, qui est la constatation de quelques cas épars sans que l'on puisse parler d'endémie.

a. En Afrique

Ce continent présente géographiquement plusieurs faciès épidémiologiques hétérogènes et dynamiques. De nombreux facteurs tels que écologiques, anthropologiques, climatiques et biologiques interviennent dans la définition d'un faciès épidémiologique. Ce sont:

- l'environnement éco climatique et socio-économique;
- le parasite (espèce en cause);

- le vecteur : éco phénotype, dynamique des populations et capacité vectorielle;
- la population dont le degré de réceptivité à l'infection palustre est fonction du :
 - lieu et du type d'habitat (urbain, périurbain, rural, etc.)
 - mode de vie, du degré de prémunition, des activités, de la prise ou non d'antipaludiques et des mesures de protection contre les vecteurs.

Les faciès épidémiologiques décrits en Afrique sont :

- ✓ Des zones de paludisme endémique stable à transmission permanente où l'état de prémunition des enfants survivant à l'infection palustre est acquis précocement avant l'âge de 5 ans. On rencontre ce faciès surtout dans la zone équatoriale des forêts.
- ✓ Des zones de paludisme endémique à recrudescence saisonnière où l'état de prémunition des enfants survivant à l'infection tarde à apparaître. Il est observé en zone de savane tropicale.
- ✓ Des zones de paludisme instable à transmission épisodique qui ne permet pas d'acquérir un degré de prémunition suffisante et s'observe surtout en zone sahélienne. Certains auteurs ajoutent un quatrième faciès.
- ✓ Des zones de paludisme sporadique (16).

A côté de ces différents faciès épidémiologiques, il existe également le paludisme des régions côtières, le paludisme lagunaire, le paludisme des oasis et celui du milieu urbain.

b. Au Mali

Le Mali est un pays endémique avec 5 faciès épidémiologiques (17). Le paludisme existe presque sur tout le territoire du Mali avec un gradient d'endémicité variant du sud au nord. On y rencontre 4 espèces plasmodiales (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax*). *P. vivax* a été décrit plus fréquemment au nord Mali dans la population leucoderme (18) ; mais aussi au centre et au sud du Mali dans une population mélanoderme (32).

Ces faciès sont :

- ✓ Une zone soudano-guinéenne à transmission saisonnière longue de 4 à 6 mois ; le paludisme y est holo-endémique avec un indice plasmodique $IP > 85\%$ et $IS > 75\%$
- ✓ Une zone de transmission saisonnière courte de 3 à 4 mois. Elle correspond à la zone Nord soudanienne et au sahel. Le paludisme y est hyper-endémique avec un indice plasmodique variant entre 50 -75% et IS qui varie de 51 à 75%.
- ✓ Une zone de transmission sporadique voire épidémique correspondant au Sahara avec un indice plasmodique inférieur à 5%.

- ✓ Des zones de transmission bi ou plurimodales comprenant le delta intérieur du fleuve Niger et les zones de barrage: Sélingué, Manantali et Markala. Le paludisme est de type méso-endémique avec un indice plasmodique IP de 26 à 50% et IS de 11 à 50%.
- ✓ Des zones peu propices à l'impaludation : les milieux urbains (Bamako et Mopti) où le paludisme est hypo-endémique avec un indice plasmodique et IS inférieurs à 10%. Les enfants vivant dans ces zones sont exposés aux formes graves et compliquées du paludisme. Cette hypo-endémicité du milieu urbain expose les enfants citadins aux formes graves et compliquées du paludisme, souvent à un âge plus avancé par rapport aux enfants des zones rurales (16).

Tous les Anophèles (genre de moustique qui transmet la maladie, défini plus loin) ne sont pas bons vecteurs du paludisme humain et, parmi les bons vecteurs, certains transmettent par intermittence et d'autres de façon quasi continue, en fonction de divers facteurs.

L'importance du vecteur est telle qu'elle détermine deux grands types de paludisme, stable ou instable (19).

- ✓ Paludisme stable:

On parle de paludisme stable lorsque la saison de transmission est très longue et qu'il y a peu de changement dans l'incidence au cours de l'année et d'une année à l'autre.

Les changements climatiques sont trop peu importants pour influencer l'activité de transmission des Anophèles et la température assure un cycle sporogonique rapide. Le vecteur est hautement anthropophile et sa durée de vie est longue.

Le paludisme stable est le plus souvent un paludisme à *P. falciparum* et il entretient chez la population un degré de protection immune très important. On observe, entre le groupe d'âge de 1 à 4 ans et celui des adultes, une baisse progressive des densités parasitaires moyennes. Dans une région de l'Inde à paludisme stable, on a observé des densités moyennes de 12.000 parasites par μ l de sang chez les enfants alors que le groupe des adultes a une densité moyenne d'environ 100 parasites par μ l de sang. C'est la prémunition qui est responsable de cet effondrement.

- ✓ Paludisme instable:

Le paludisme instable est une situation dans laquelle un écart climatique minime, des variations dans l'intensité de reproduction des *Anopheles* ou un léger changement de structure de la population humaine causent un arrêt presque complet de la transmission ou au contraire une flambée épidémique chez des sujets non immunisés. L'incidence varie d'un point à un autre, on peut observer l'anophélisme sans paludisme à certains endroits. Ce type instable

existe lorsque le vecteur est peu anthropophile ou de longévité courte, lorsque la température est à la limite de tolérance pour le développement du parasite (la sporogonie n'a lieu qu'à 18°C) et que la densité du vecteur doit obligatoirement être très forte pour assurer une transmission.

Paludisme instable ne veut pas dire paludisme saisonnier. Ce type de transmission fluctuante peut très bien être observé dans un milieu dont les caractéristiques climatiques ne changent pas au cours du temps.

A l'intérieur de ces deux types, stable et instable, on peut observer des degrés d'intensité différents (20).

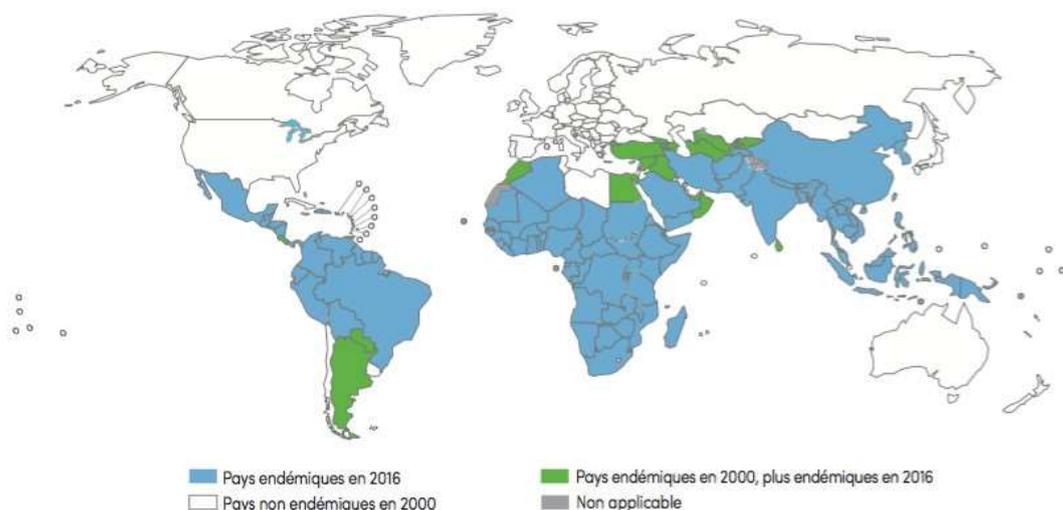


Figure 1: Répartition géographique du paludisme

(Rapport OMS 2017)

3. Causes

a. Plasmodium

Le paludisme est causé par un parasite protozoaire du genre *Plasmodium* (phylum *Apicomplexa*). Chez les humains, le paludisme est causé par *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* et *P. knowlesi*.

P. falciparum est le parasite du paludisme le plus prévalent dans la région Afrique de l'OMS; il est en effet à l'origine de 99,7% des cas de paludisme estimés en 2018, tout comme dans

les régions Asie du Sud-Est (50%), Méditerranée orientale (71%) et Pacifique occidental (65%) (21).

Les plasmodies infectent également les oiseaux, les reptiles, les singes, les chimpanzés et les rongeurs. On a rapporté des cas d'infections humaines avec des espèces simiesques du paludisme (dont *P. knowlesi*, *P. inui*, *P. cynomolgi*, *P. simiovale*, *P. brazilianum*, *P. schwetzi* et *P. simium*).

Cependant, à l'exception de *P. knowlesi*, ces infections restent limitées et sans importance en termes de santé publique. Le paludisme aviaire peut tuer les poulets et les dindes, mais cette maladie ne cause pas de dommages économiques notables à l'agriculture.

Cependant, depuis qu'il a été introduit par les humains, le paludisme a décimé les espèces endémiques d'oiseaux d'Hawaii, qui avaient évolué en son absence et sans défense contre le paludisme.

Le *Plasmodium* a été découvert par le médecin militaire Laveran à Constantine en 1880. Il se présente sous la forme d'un protozoaire très petit (1 à 2 μ selon les formes) ; la coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG) montre qu'il est constitué d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire, et contenant un noyau rouge et du pigment brun doré ou noir (hémozoïne).

Le cycle évolutif du *Plasmodium* est assez complexe et nécessite deux hôtes, un hôte définitif, l'homme, et un hôte intermédiaire et vecteur, la femelle hématophage d'un moustique du genre *Anophèles*. D'un point de vue strictement biologique, le véritable hôte définitif est le moustique (la reproduction sexuée se déroulant chez l'anophèle femelle). L'homme serait l'hôte intermédiaire dans son cycle évolutif. Néanmoins, pour des raisons anthropocentriques, et aussi historiques, on considère que l'hôte intermédiaire est le moustique.

b. L'anophèle, vecteur du paludisme

Le vecteur du parasite ainsi que son hôte primaire et définitif est la femelle du moustique du genre *Anophèles*. Lors d'un repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle femelle ingère des gamétocytes, à potentiel sexuel mâle ou femelle. Ceux-ci parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes.

Le gamète mâle subit un processus d'exflagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. Il en résulte un zygote appelé ookinète ; celui-ci se déplace, quitte l'estomac du moustique et s'implante sous la paroi stomacale en formant l'oocyste.

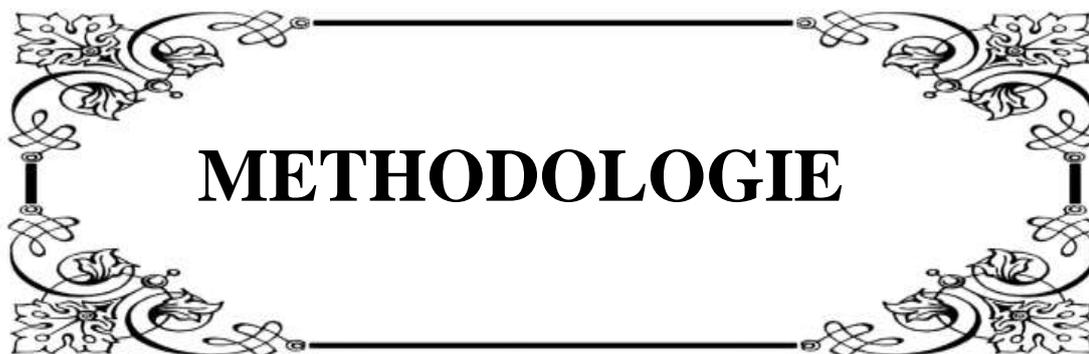
intérieure (IRS) et d'importantes améliorations de l'accès à un traitement efficace contre le paludisme. En conséquence, on estime que le nombre de cas de paludisme a diminué de 17% et que le taux de mortalité infantile spécifique au paludisme a diminué de 26% dans le monde entre 2000 et 2011. Dans ce climat optimiste, l'Union Africaine, lors de sa troisième session de la Conférence des ministres de la Santé (Johannesburg, Afrique du Sud) en avril 2007, a plaidé en faveur d'une élimination éventuelle du paludisme du continent ; elle a été suivie d'un appel en octobre de la même année de Bill et Melinda Gates, avec le soutien de l'OMS, pour l'éradication mondiale du paludisme. En 2011, 36 des 99 pays restants atteints de paludisme poursuivent l'élimination. Malgré les progrès récents réalisés dans la réduction de la morbidité et de la mortalité du paludisme, il existe des preuves empiriques et théoriques que la série actuelle d'interventions ne sera pas suffisante pour éliminer le paludisme dans de nombreuses régions d'Afrique subsaharienne où les niveaux de transmission du paludisme sont historiquement élevés. Par exemple, dans l'ouest du Kenya, malgré plus de 10 ans de couverture élevée des ITN, la prévalence des parasites chez les enfants < 5 ans est passé de 83% en 1992 à seulement 41% par microscopie en 2009. Des observations similaires ont été relevées dans des zones autrefois considérées comme des zones à forte transmission, comme la Zambie et l'Ouganda. Une simulation mathématique de la transmission de *Plasmodium falciparum* en Afrique a suggéré que ce n'est que dans les régions où le niveau de transmission de base est le plus bas (< trois piqûres infectieuses par personne et par an) que le paludisme pourrait être éliminé grâce à une combinaison d'ITN, d'IRS et de prise en charge des cas avec une combinaison de thérapie (CTA) (23).

La situation dans les Amériques et en Asie est quelque peu différente de celle de l'Afrique en raison de la proportion plus élevée de cas de paludisme causés par *P. vivax*, dont le stade hépatique dormant pose un défi supplémentaire à l'élimination. En outre, bon nombre des vecteurs dans ces zones sont exophages et, par conséquent, sont moins susceptibles d'être affectés par l'utilisation d'ITN ou d'IRS. Il est reconnu que les mêmes interventions antipaludiques utilisées avec succès en Afrique subsaharienne peuvent ne pas fonctionner aussi bien dans les zones d'endémie *P. vivax*, et la faisabilité technique d'éliminer *P. vivax* des zones où il est actuellement endémique n'est pas encore connue. A la suite des données empiriques et de modélisation suggérant que les interventions actuelles devront être complétées par des stratégies supplémentaires pour l'élimination du paludisme dans la majeure partie de l'Afrique subsaharienne et la reconnaissance du fait qu'il n'existe pas encore de stratégie technique réalisable pour éliminer *P. vivax* d'Amérique latine et d'Asie, une

attention accrue est accordée au réservoir de parasites humains. Le réservoir de parasite humain se compose de toutes les infections de paludisme chez les personnes dans une zone donnée, y compris les infections symptomatiques et asymptomatiques, et les stades sexuels et asexués du parasite. L'amélioration de la prise en charge des cas par l'utilisation d'antipaludiques plus efficaces a contribué à réduire la transmission du paludisme dans certaines régions, mais une faible utilisation des soins de santé, des performances sous-optimales des travailleurs de la santé, des problèmes d'observance des traitements par les patients et des ruptures de stock de médicaments limitent la capacité des stratégies de gestion des cas de réduire considérablement la fraction du réservoir de parasites hébergé chez les personnes symptomatiques. L'expansion de la gestion des cas communautaires peut aider à résoudre les problèmes d'accès, mais les problèmes du système de santé sont susceptibles de demeurer un défi dans la plupart des pays d'endémie. De plus, la prise en charge des cas, par définition, ne s'adresse qu'aux personnes symptomatiques, et on reconnaît de plus en plus qu'une proportion importante du réservoir de parasites peut être trouvée chez les personnes qui ne présentent pas de symptômes et qui ne demandent donc pas de soins. En partie, l'utilisation d'analyses moléculaires telles que la PCR pour détecter l'ADN du parasite a amélioré la sensibilité des diagnostics pour trouver des infections faibles, inférieures aux limites de détection de la microscopie. Ces infections silencieuses sont plus susceptibles d'être asymptomatiques. Leur étude a contribué à la compréhension de l'étendue du réservoir de parasites chez les individus asymptomatiques (24). Comme l'ampleur du réservoir de parasites asymptomatiques a été révélée par l'utilisation croissante de méthodes de diagnostic moléculaire plus sensibles, de nouvelles stratégies visant à cibler les personnes atteintes d'infections silencieuses sont en cours d'élaboration et d'évaluation. Avec l'objectif d'examiner les données qui appuient l'hypothèse selon laquelle le ciblage du réservoir de parasites asymptomatiques contribuera considérablement à la réduction de la transmission du paludisme et à l'élimination éventuelle du paludisme (24).

La transmission s'explique par les gamétocytes, stade transmissible du parasite *Plasmodium*, produits par une petite fraction de mérozoïtes qui se différencient en formes sexuées. *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* produisent des gamétocytes dans le même délai au cours de la schizogonie érythrocytaire ; la production de gamétocytes *P. falciparum* est retardée en comparaison. En conséquence, une proportion plus élevée de patients atteints de paludisme à *P. vivax* se trouvent avec des gamétocytes peu de temps après avoir développé des symptômes que chez les patients infectés par *P. falciparum*, et les infections à *P. vivax*

peuvent être transmises avant de devenir symptomatiques. Les gamétocytes sont ingérés par les moustiques anophèles femelles dans un repas sanguin et ils subissent une reproduction sexuelle à l'intérieur du moustique, formant éventuellement un ookinète qui traverse la paroi médiane et se développe en oocyste. L'oocyste produit des sporozoïtes qui migrent dans la glande salivaire des moustiques, en attendant d'être injectés dans un hôte sensible au moment du prochain repas sanguin de l'anophèle. Le développement des parasites du genre *Plasmodium* chez le moustique dépend de la température et varie de 10 à 14 jours pour *P. falciparum* et de 11 à 22 jours pour *P. vivax* (24).



METHODOLOGIE

IV-METHODOLOGIE

1. Lieu d'étude :

Notre étude a eu lieu à Bancoumana et Donéguébougou.

Bancoumana : L'enrôlement à Bancoumana a eu lieu entre Février et Décembre 2018. L'étude a été conduite par le MRTC/USTTB au Centre de Recherche sur le Paludisme John Lamontagne à Bancoumana, un village au Mali, et dans ses environs immédiats. Bancoumana est situé à 60 km au Sud-Ouest de Bamako et a une population d'environ 21 000 habitants. Le village est situé dans la zone soudanienne du Mali. Le climat est chaud, avec des températures journalières de 19°C à 40°C. Les précipitations annuelles varient entre 600 mm et 1200 mm et surviennent entre Juin et Octobre. Beaucoup d'essais cliniques, aussi bien que des études épidémiologiques et entomologiques sur le paludisme ont été conduits à Bancoumana (25).

Donéguébougou : L'enrôlement sur le site de Donéguébougou a commencé en Juin 2018 jusqu'en Décembre 2018. Donéguébougou est une communauté située à 30 km au nord de Bamako et qui compte environ 2 000 habitants et 2 000 habitants dans les villages environnants. Pour le besoin des essais vaccinaux et d'études épidémiologiques, des installations adéquates ont été mises en place à Donéguébougou, à distance de marche des habitations des résidents. A Donéguébougou, la transmission du paludisme est fortement saisonnière, la saison de transmission se déroulant de Juin à Décembre. C'est une zone de forte transmission, avec des taux d'inoculation entomologique (déterminés par les captures humaines de moustiques) allant de 137 à 167 piqûres infectieuses par personne pendant une saison de transmission. Dans des études antérieures, Bancoumana et Donéguébougou ont donné des résultats de transmission similaires (mesurés par DSF : Direct Skin Feeding ou gorgement direct sur la peau) (26).

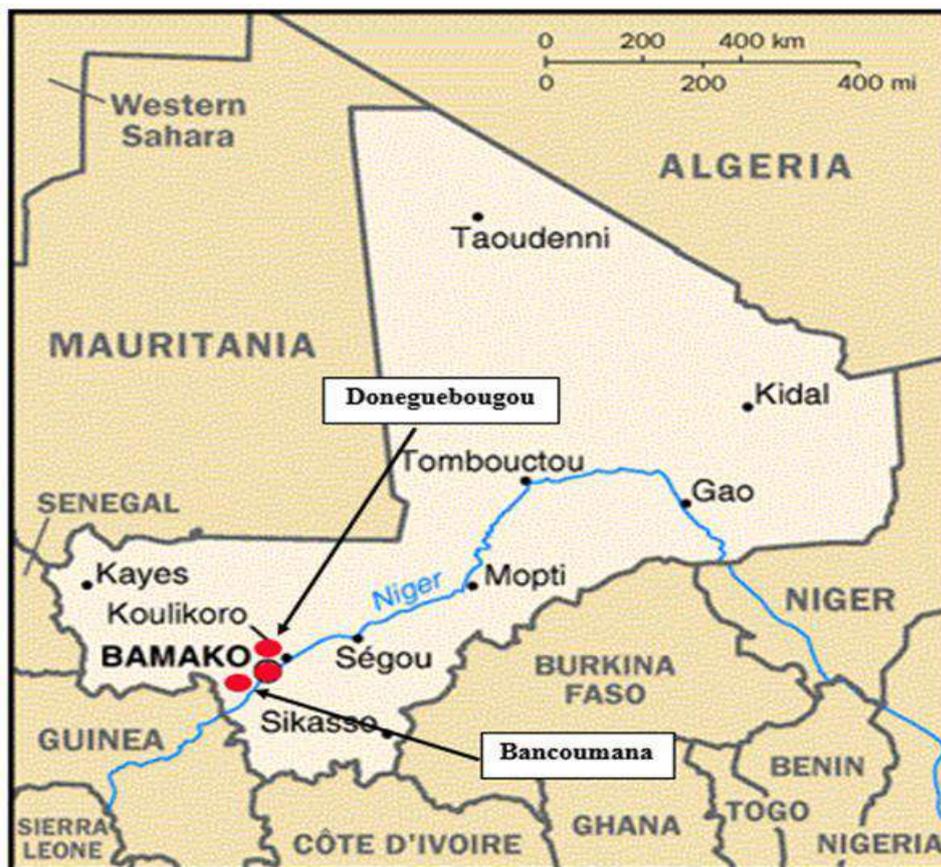


Figure 3: Carte montrant les sites d'étude de Bancoumana et Donéguébougou, Mali (Source : Institut Géographique du Mali ; IGM) (27).

2. Population et Période d'étude

a. Population d'étude : Il s'agit des enfants et adultes résidant à Bancoumana, Donéguébougou et environnants.

b. Période de recrutement : Février 2018 à Décembre 2018.

c. Conception de l'étude : Etude longitudinale d'enfants et d'adultes Maliens en bonne santé, pour examiner les dynamiques de la transmission naturelle du paludisme infection et la transmission à travers de multiples saisons dans deux sites où un Vaccin Bloquant la Transmission (TBV) est en train d'être testé.

d. Durée de l'étude :

Date de début : Février 2018

Date de fin : Avril 2020

Plan de Recrutement :

La permission communautaire a été demandée et obtenue auprès des sages et des autres membres de la communauté après explication et discussion de l'étude au cours d'une rencontre.

Le processus de consentement éclairé individuel : L'équipe d'étude a effectué un examen minutieux des mots à propos du formulaire de consentement de l'étude et a traduit le consentement oralement dans la langue locale, car la majorité des volontaires potentiels ne lisent pas ou ne parlent pas le français. Une vérification que les traductions orales sont exactes et que les volontaires potentiels comprenaient le contenu du formulaire de consentement éclairé était effectuée par un témoin indépendant qui n'est pas membre de l'équipe d'étude.

Les données récentes du recensement ont été utilisées pour déterminer les ménages et les familles composant une concession et fournir les coordonnées GPS pour localiser ces ménages. Les individus d'une concession et des ménages associés dans la zone de Bancoumana et Donéguébougou ont alors été invités à la clinique de l'étude pour l'administration du consentement et le dépistage. Chaque volontaire d'une famille a consenti séparément, et tous les individus d'une même famille n'avaient pas besoin de participer.

Un assentiment a été utilisé pour tous les enfants participants dont l'âge était compris entre 12-17 ans et qui étaient capables de donner leur assentiment pour participer. Un consentement parental a été demandé pour tout volontaire de moins de 18 ans. Si un parent est mineur et lui et son enfant ont tous moins de 18 ans, un consentement a été obtenu d'un grand parent, en accord avec la coutume malienne.

L'option de se faire enrôler dans les trois cohortes (génotypage, surveillance parasitaire : PS et Direct Skin Feeding : DSF) a été donnée à tous les volontaires de 6 mois à 65 ans, avec la priorité au consentement de la cohorte du DSF qui était la cohorte ciblée pour l'échantillonnage et la réponse à l'objectif primaire de l'étude. Les volontaires de moins de 5 ans ou de plus de 65 ans avaient l'option de se faire enrôler soit dans la cohorte de génotypage ou de surveillance parasitaire. Une fois que la cohorte DSF a atteint la taille prévue (n=1800), l'enrôlement dans la cohorte DSF s'est arrêté, mais l'enrôlement a continué dans les cohortes génotypage et surveillance parasitaire.

3. Critères d'inclusion des volontaires

3.1. Cohorte de Surveillance Parasitaire

Tous les critères suivants devraient être remplis pour qu'un volontaire puisse être inclus :

- Etre âgé de 6 mois à 65 ans
- Etre résident connu de Bancoumana, Donéguébougou ou des villages environnants
- Accepter la conservation des échantillons de son sang pour des recherches futures.
- Accepter et signer le consentement éclairé et/ou l'assentiment pour les enfants de 12-17 ans.

3.2. Cohorte de gorgement direct sur la peau (DSF)

- Etre âgé entre 5 et 65 ans, inclus
- Etre en bon état général de santé déterminé par la revue de l'histoire médicale et/ou les examens cliniques au moment du dépistage
- Etre résident connu de Bancoumana, Donéguébougou ou des villages environnants
- Accepter la conservation des échantillons de laboratoire pour des recherches futures
- Accepter et signer le consentement éclairé et /ou de l'assentiment pour les enfants de 12-17 ans
- Accepter de participer au gorgement direct sur la peau

4. Critères de non-inclusion des volontaires

4.1. Cohorte de Surveillance Parasitaire

- Refus de participer
- Maladie comportementale, cognitive ou psychiatrique qui selon l'investigateur affecte l'habilité du sujet comprendre et à coopérer avec le protocole de l'étude.
- Autre condition qui, de l'avis de l'investigateur, compromettrait la sécurité ou les droits du volontaire participant l'essai ou rendrait le sujet incapable de se conformer au protocole.
- Participant actuellement enrôlés dans le protocole 17-I-N006 ou un autre protocole actif d'essai de vaccine du LMIV/MRTC.

4.2 Cohorte de DSF

- Refus de participer
- Maladie comportementale, cognitive ou psychiatrique qui selon l'investigateur affecte l'habilité du sujet comprendre et à coopérer avec le protocole de l'étude
- Autre condition qui, de l'avis de l'investigateur, compromettrait la sécurité ou les droits du volontaire participant l'essai ou rendrait le sujet incapable de se conformer au protocole
- Participant actuellement enrôlés dans le protocole 17-I-N006 ou un autre protocole actif d'essai de vaccin du LMIV/MRTC
- Antécédent de réaction sévère aux piqûres de moustiques.

4.3. Justification de non-inclusion de jeunes enfants

Les enfants de moins de 5 ans sont exclus de participer à la cohorte de DSF de l'étude en raison des problèmes de gorgement potentiels découlant de la petite surface corporelle pour les pots de moustiques à appliquer. En outre, les enfants de moins de 5 ans avaient du mal à maintenir une position de gorgement stable et immobile pendant la durée requise du DSF.

5. Calendrier de l'Etude

a. Dépistage

Le but de la visite de dépistage est de déterminer l'éligibilité du sujet à participer à l'étude. Les procédures de dépistage comprenaient le processus de consentement éclairé et les évaluations cliniques. Les activités de dépistage pouvaient survenir au cours de plusieurs visites si nécessaire, y compris le jour de l'enrôlement. Dans le cas où une maladie chronique est découverte au cours du dépistage, le traitement et les soins de longue durée n'étaient pas remboursés par l'étude, mais la référence pour des soins continus a été fournie au volontaire. Les évaluations de dépistage suivantes devaient être complétées pour tous les participants dans les 56 jours de l'enrôlement :

- Expliquer l'étude et le document de consentement éclairé au sujet.
- S'assurer que le sujet a donné son consentement en signant ou en apposant son empreinte digitale sur le document de consentement éclairé.
- S'assurer que le volontaire a reçu une copie signée du consentement éclairé.
- Obtenir une histoire médicale complète et l'utilisation de médicaments.
- Administrer un examen physique orienté, y compris les signes vitaux (taille, poids, pression artérielle, température et fréquence cardiaque).

b. Enrôlement

La visite d'enrôlement pouvait se faire le même jour de la visite de dépistage. Chaque cohorte avait les procédures suivantes complétées à l'enrôlement.

6. Visites mensuelles

La première visite mensuelle pouvait avoir lieu le même jour que la visite d'enrôlement. Chaque cohorte a eu les procédures suivantes complétées tous les mois. Lorsque l'enrôlement et la visite mensuelle ont lieu le même jour, les procédures se chevauchant, par exemple la goutte épaisse, l'hémogramme, le confetti ont été obtenus une fois. Si les visites se produisent à un jour ou plus d'intervalle, toutes les procédures ont été répétées. Les mois ont été basés sur 30 jours.

a. Cohorte de Surveillance Parasitaire

- Interrogatoire pour les symptômes du paludisme ou un changement aigu dans l'état de santé (incluant une grossesse connue, une naissance, un avortement)
- Signes vitaux et examen physique si nécessaire
- Collecte de 3,5 mL de sang veineux (tube SST) pour ELISA et SMFA
- Collecte de 3 mL de sang veineux (tube EDTA) pour
 - Goutte épaisse et test de diagnostic rapide (RDT)
 - Variants de l'hémoglobine
 - Hémogramme
 - Essais quantitatifs de réaction en chaîne par polymérase (qPCR) du parasite
 - Génotypage du parasite
 - Génotypage médico-légal
 - Confettis.

b. Cohorte de DSF

- Interrogatoire pour les symptômes du paludisme ou un changement aigu dans l'état de santé (incluant une grossesse connue, une naissance, un avortement)
- Signes vitaux et examen physique si nécessaire
- Collecte de 3,5 mL de sang veineux (tube SST) pour ELISA et SMFA
- Collecte de 3 mL de sang veineux (tube EDTA) pour :
 - Goutte épaisse et test de diagnostic rapide (RDT)
 - Variants de l'hémoglobine
 - Taux d'hémoglobine
 - Essais quantitatifs de réaction en chaîne par polymérase (qPCR) du parasite
 - Génotypage du parasite
 - Génotypage médico-légal
 - Confettis.

c. Suivi des volontaires

Après l'enrôlement, les cohortes de Surveillance Parasitaire et de DSF avaient un nombre attendu de visites mensuelles, annuelles et de visites imprévues.

Les cas de paludisme ont été traités conformément aux directives nationales de lutte contre le paludisme au Mali pour les adultes et les enfants. Les participants qui se présentaient lors de visites imprévues n'étaient pas invités à participer aux DSF (cohorte DSF uniquement).

d. Procédures / Evaluations de l'Etude

i. Evaluation Clinique

Tous les volontaires ont passé par la clinique pour des examens cliniques de dépistage, un examen clinique au cours du suivi et un examen clinique après le gorgement.

ii. Poste de prélèvement

Constitué de quatre biologistes, deux internes en médecine et un interne en pharmacie à Donéguebougou. Par contre à Bancoumana, l'équipe était constituée de huit biologistes et deux internes en pharmacie. Deux biologistes étaient chargés du prélèvement veineux dans un tube SST 3,5ml et un tube EDTA 2ml. Après le prélèvement de chaque participant ils procédaient à l'étiquetage des tubes. Sur les étiquettes étaient mentionnés : le numéro d'identification et le sexe du participant, le numéro d'étude la date et l'heure du prélèvement ainsi que les initiales du biologiste qui a prélevé. Les échantillons étaient chargés sur des portoirs appropriés et transportés ensuite dans la salle d'analyse. A la réception des échantillons, on vérifiait si les tubes étaient bien étiquetés, si la quantité demandée se trouvait dans les tubes et si la qualité du sang répondait aux normes des tests à effectuer, puis on faisait le tri des échantillons. Ensuite, on a procédé à la centrifugation du sang coagulé dans le tube SST, les analyses hématologiques et biochimiques ont été effectuées par les autres membres de l'équipe. Après l'analyse hématologique, on acheminait les tubes EDTA 0,5ml au laboratoire central de Bamako pour être conservés à 4°C avant analyse.

iii. Diagnostique du Paludisme

➤ Gouttes épaisses :

Les gouttes épaisses et les frottis minces colorés au Giemsa ont été examinés au laboratoire clinique du MRTC conformément aux procédures standards. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes qui avaient des formes asexuées de parasites recevaient un traitement antipaludique conformément aux normes en vigueur. Les autres participants qui avaient des gouttes positives ont été suivis jusqu'à ce qu'ils développent des symptômes du paludisme, mais ne recevaient pas de traitement antipaludique jusqu'à ce qu'ils présentent des symptômes du paludisme.

➤ **Diagnostic Rapide du Paludisme :**

Pour les visites imprévues et le diagnostic Clinique, les RDTs ont été utilisés pour la détermination d'un paludisme aigu ; mais ces tests n'ont pas été utilisés à la place de la microscopie pour déterminer l'infection palustre comme critères de jugement.

iv. Essais de Gorgement

➤ **Gorgement Direct sur Peau (DSF) :**

Les DSF, dans lesquels les moustiques élevés à l'insectarium sont directement gorgés sur des individus infectés, peuvent être plus prédictifs de l'impact d'une intervention sur la transmission que le gorgement par membrane.

Pour les DSF prévus dans cette étude, 2 pots de gorgement avec environ 30 moustiques femelles pré-affamés dans chacun des pots ont été préparés lors de l'inclusion et à chaque visite mensuelle pour les personnes enrôlées dans la cohorte DSF. Chaque sujet a été exposé aux pots de gorgement pendant 15 à 20 minutes. Tous les participants se voyaient proposer un antihistaminique topique et/ou antiprurigineux topique à utiliser après les gorgements. Des médicaments systémiques pouvaient également être prescrits pour le traitement des symptômes locaux ou systémiques après les DSF si indiqué cliniquement.

Aucun sujet n'a été soumis à plus de 13 DSF au cours d'une période de 12 mois pendant l'étude. Notez que si les participants enrôlés dans la cohorte DSF ne sont pas disposés à subir d'autres DSF, ils n'ont pas été retirés, mais sont suivis dans le cadre de la cohorte de surveillance parasitaire si les participants étaient consentants.

Après le gorgement, les moustiques non gorgés seront retirés dans les pots avec trois moustiques gorgés au sang qui seront conservés pour les tests moléculaires (y compris le parasite, la détection des gamètes chez le moustique). Les moustiques survivants sont transportés à Bamako jusqu'à 7-14 jours après leur gorgement, où ils sont évalués par des tests microscopiques ou moléculaires pour la détection d'oocystes.

Parcours du participant :

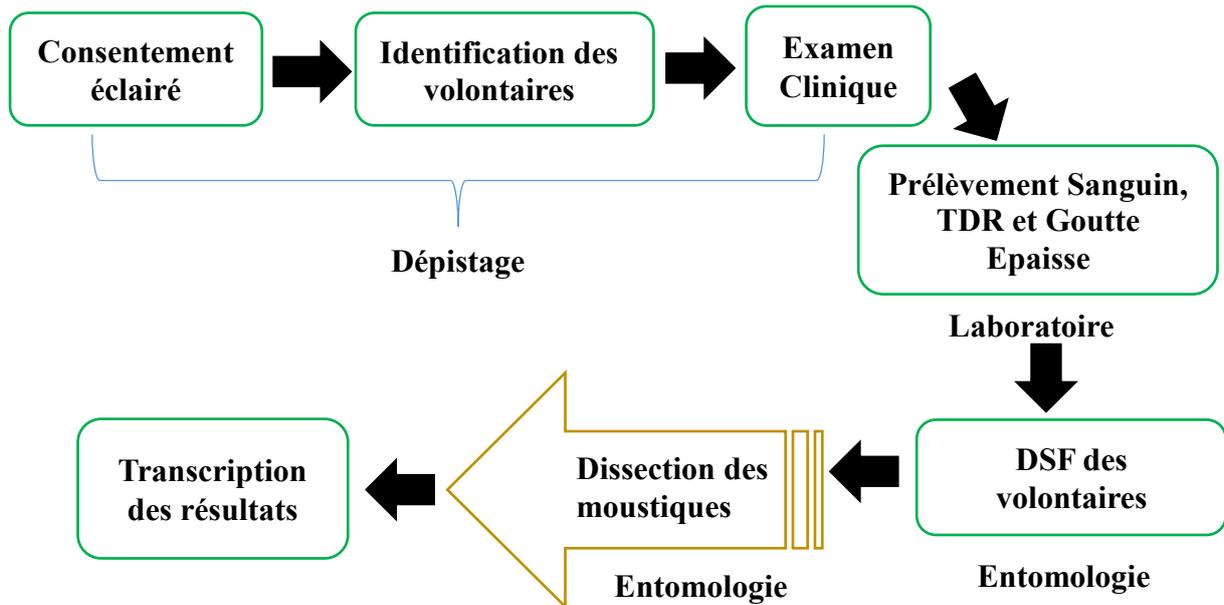


Figure 3 : Photo montrant une séance du DSF

7. Considérations éthiques :

a. Comité d'éthique :

Le protocole a été au préalable soumis à l'approbation des différents Comités d'Ethiques Institutionnels (CEI) de la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie (FMOS) et la

Faculté de Pharmacie (FAPH) du Mali et de l'IRB (International Review board) du NIAID/NIH des USA et approuvé respectivement sous les numéros 2011/37/FMPOS et 11-I-N126.

b. Collecte et analyse des données :

Les données ont été directement collectées dans la base de données DFexploire ensuite extrait sous le format d'un fichier Excel. L'anonymat des volontaires a été garanti par le niveau de sécurité d'accès aux données qui n'étaient accessibles qu'aux investigateurs formés et chacun ayant un mot de passe personnel. Les échantillons de produits biologiques des participants ne portaient pas leurs noms, mais plutôt un numéro d'identification (ID). Une série de monitoring interne et externe a été instaurée pour assurer la qualité des données. Après extraction sous format Excel, les données ont été analysées par le logiciel Excel 2013 et SPSS version 21.0 et RStudio 1.4.1717. Le test de Chi² de Pearson a été utilisé pour comparer les proportions. La probabilité exacte de Fisher a été calculée si le Chi² de Pearson n'était pas applicable pour les petits échantillons. Les moyennes géométriques de la densité parasitaire ont été calculées selon l'âge, le sexe et l'espèce plasmodiale. Ces moyennes ont été comparées par le test de Student. Le seuil de signification statistique retenu était $p < 0,05$.



RESULTATS

V. RESULTATS

1. Caractéristiques socio-démographiques :

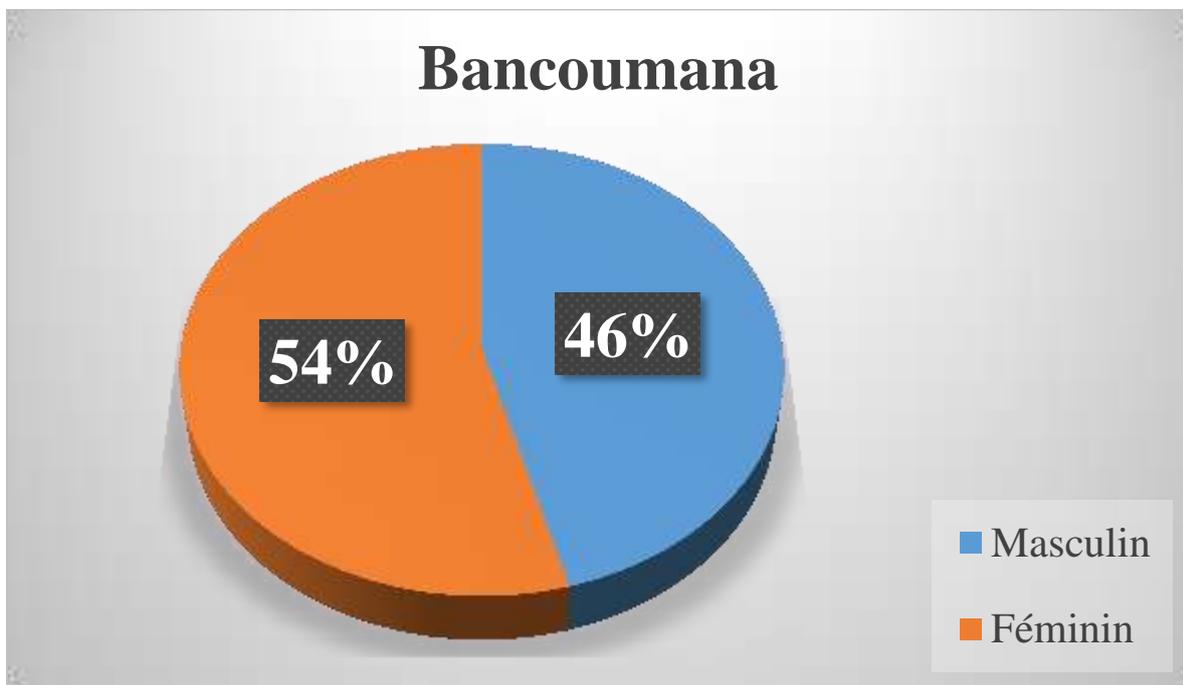
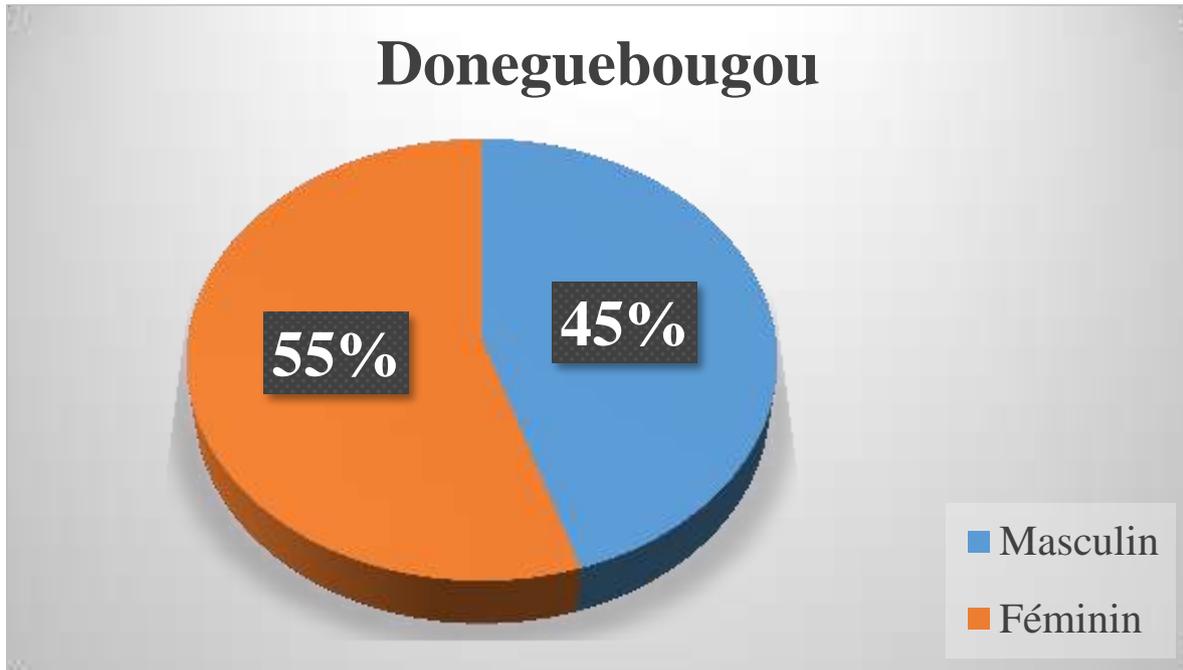


Figure 4: Répartition des volontaires selon le sexe et les sites

Le sexe féminin prédomine à Bancoumana et Donéguébougou avec respectivement, un sexe ratio de **0,84** et **0,82**.

Tableau III: Répartition des volontaires selon les tranches d'âge et les sites

Tranche d'âge/Village	Bancoumana	Donéguébougou
	n (%)	n (%)
5 - 8 ans	121 (17)	68 (15)
9 - 18 ans	334 (46)	206 (44)
19 ans et plus	271 (37)	192 (41)
Total	726 (100)	466 (100)

Sur les deux sites, la tranche d'âge 9 - 18 ans était majoritairement représenté avec respectivement 46% et 44% à Bancoumana et Donéguébougou.

2. Résultats descriptifs :

Tableau IV: Prévalence du paludisme en Novembre 2018

Tranche d'âge / Village	Bancoumana	Donéguébougou
	n (%)	n (%)
5 - 8 ans	98 (14)	45 (2)
9 - 18 ans	293 (19)	134 (29)
19 ans et plus	238 (11)	149 (16)
Total	629 (44)	328 (65)

Nous avons observé que la prévalence du paludisme à Bancoumana était 14% chez les 5 – 8 ans, 19% chez les 9 – 18 ans et 11% chez les 19 ans et plus. Par contre à Donéguébougou, la prévalence du paludisme était 2% chez les 5 – 8 ans, 29% chez les 9 – 18 ans et 16% chez les 19 ans et plus.

Tableau IV: Répartition des espèces plasmodiales dans la population d'étude

Espèce de plasmodium	Bancoumana	Donéguébougou
	n (%)	n (%)
<i>P. falciparum</i>	1478 (94,7)	456 (94,6)
<i>P. malariae</i>	69 (4,4)	24 (5,0)
<i>P. ovale</i>	14 (0,9)	2 (0,4)
Total	1561 (100)	482 (100)

Plasmodium falciparum était le plus représenté sur les deux sites avec 94,7% à Bancoumana et 94,6% à Donéguébougou, suivi de *Plasmodium malariae* avec 4,4% à Bancoumana et 5% à Donéguébougou, puis *Plasmodium ovale* avec 0.9% à Bancoumana et 0.4% à Donéguébougou.

Tableau IV : Répartition de la coinfection des espèces plasmodiales dans la population d'étude

Villages / Espèces	<i>P. falciparum</i> / <i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i> / <i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i> / <i>P. ovale</i>
Bancoumana	25	4	0
Donéguébougou	1	0	0
Total	26	4	0

Nous avons observé quelques coinfections de *P. falciparum* et *P. malariae* à Bancoumana contre une coinfection de *P. falciparum* et *P. malariae* à Donéguébougou.

a. Résultats analytiques :

Tableau V : Moyenne de la parasitémie à *P. falciparum* selon les tranches d'âge

Tranche d'âge	Bancoumana	Donéguébougou
	Moyenne ± ET (n)	Moyenne ± ET (n)
5 - 8 ans	218,18 ± 699,853 (217)	57,92 ± 132,697 (47)
9 -18 ans	97,36 ± 569,361 (1087)	37,80 ± 182,175 (258)
19 ans et plus	75,23 ± 316,070 (203)	14,01 ± 58,958 (141)
<i>p</i>	0,004	0,003

Nous observons que la moyenne géométrique de la parasitémie à *P. falciparum* varie entre les tranches d'âge avec un taux plus élevé dans la tranche d'âge 5 - 8 ans ($p=0,004$ et $0,003$ respectivement à Bancoumana et Donéguébougou).

Tableau VII : Moyenne de la parasitémie à *P. malariae* selon les tranches d'âge

Tranche d'âge	Bancoumana	Donéguébougou
	Moyenne ± ET (n)	Moyenne ± ET (n)
5 - 8 ans	34,63 ± 32,124 (8)	13,00 ± 0 (1)
9 -18 ans	8,33 ± 11,534 (43)	20,67 ± 48,903 (9)
19 ans et plus	13,00 ± 27,755 (18)	3,64 ± 2,735 (14)
<i>p</i>	<0,001	<0,001

Dans le cas de *P. malariae* nous avons observé que la moyenne géométrique de la parasitémie varie entre les tranches d'âge avec une moyenne plus élevée chez les 5 – 8 ans suivi des 19 ans et plus à Bancoumana ($p<0,001$), alors qu'à Donéguébougou c'est plus élevé chez les 9 - 18 ans suivi des 5 – 8 ans ($p<0,001$).

Tableau VIII : Moyenne de la parasitémie à *P. ovale* selon les tranches d'âge

Tranche d'âge	Bancoumana	Donéguébougou
	Moyenne ± ET (n)	Moyenne ± ET (n)
5 - 8 ans	121,00 ± 237,335 (4)	1,00 ± 0 (1)
9 -18 ans	29,11 ± 41,350 (9)	0 ± 0 (0)
19 ans et plus	4,00 ± 0 (1)	10,00 ± 0 (1)
<i>p</i>	<0,001	

Dans le cas de *P. ovale*, nous avons observé à Bancoumana que la parasitémie moyenne géométrique dépendait de l'âge ($p < 0,001$).

Tableau VIII : Moyenne de la parasitémie à *P. falciparum* selon le sexe et selon les sites

Sexe	Bancoumana	Donéguébougou
	Moyenne (n)	Moyenne (n)
Masculin	101,04 (922)	35,60 (242)
Féminin	119,61 (585)	27,68 (215)
<i>p</i>	0,08	0,15

Nous n'avons pas observé une différence statistiquement significative entre les deux sexes en termes de parasitémie à *P. falciparum*, sur les deux sites.

Tableau IX : Moyenne de la parasitémie à *P. malariae* selon le sexe et selon les sites

Sexe	Bancoumana	Donéguébougou
	Moyenne (n)	Moyenne (n)
Masculin	9,11 (37)	4,08 (12)
Féminin	16,63 (32)	16,75 (12)
<i>p</i>	0,04	<0,001

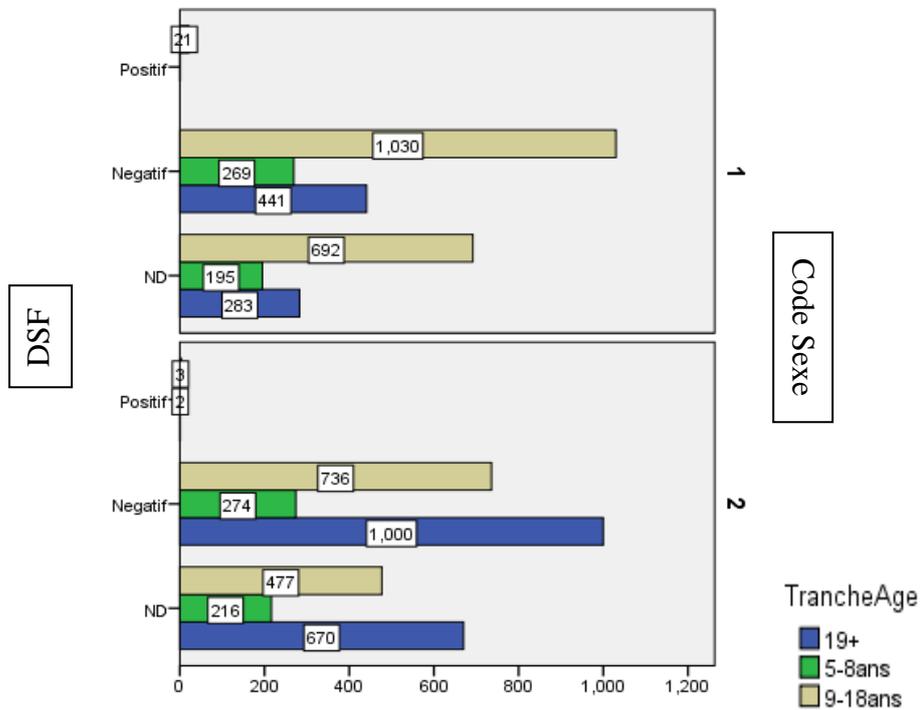
Dans le cas de *P. malariae* le sexe féminin avait une moyenne de la parasitémie plus élevée à Bancoumana et à Donéguébougou avec 16,63 et 16,75.

Tableau X : La moyenne de la parasitémie à *P. ovale* selon le sexe et selon les sites

Sexe	Bancoumana	Donéguébougou
	Moyenne (n)	Moyenne (n)
Masculin	67,73 (8)	5,50 (8)
Féminin	1,67 (2)	0 (0)
<i>p</i>	<0,001	0,001

La moyenne de la parasitémie à *P. ovale* était plus élevée chez le sexe masculin à Bancoumana et à Donéguébougou avec respectivement 67,73 et 5,50.

➤ Données de la transmission mesurée par DSF à Bancoumana en 2018 :



Légende : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure 5: Potentiel de transmission mesuré par DSF selon le sexe, la tranche d'âge en 2018 à Bancoumana

Le sexe masculin et la tranche d'âge de 9 - 18 ans avait le plus grand nombre de DSF positif compare au sexe féminin ($p < 0,001$).

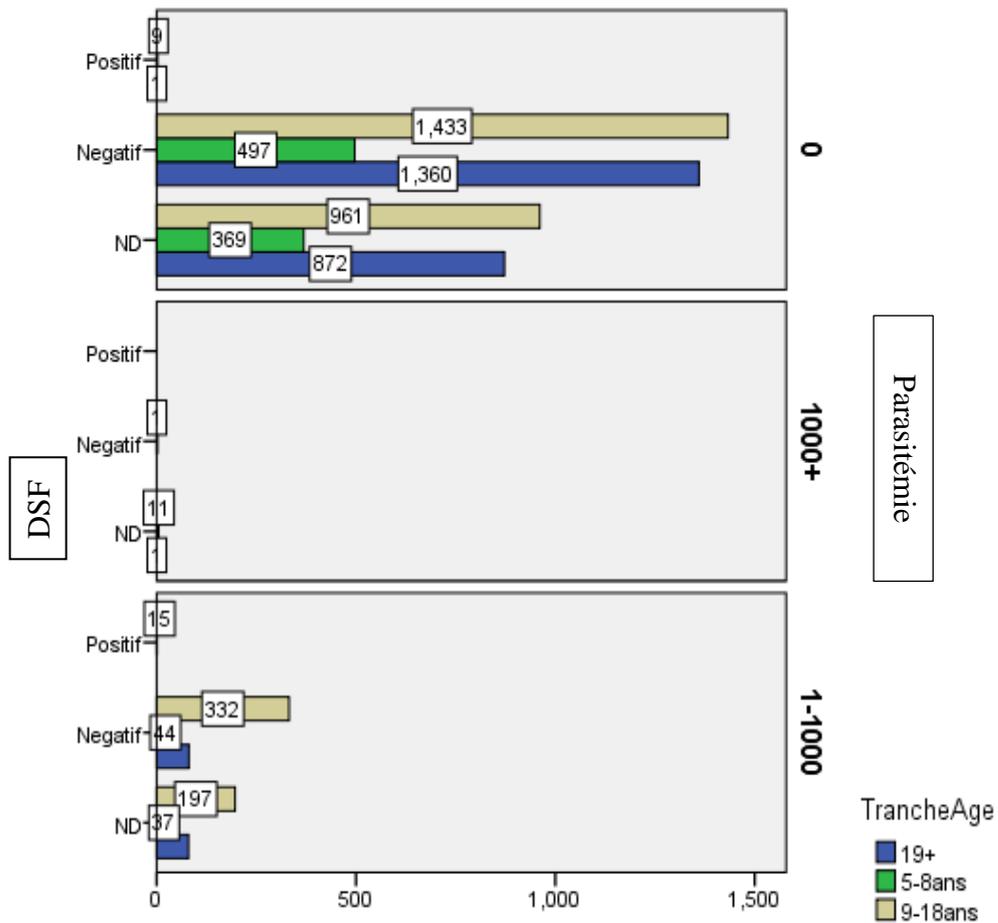
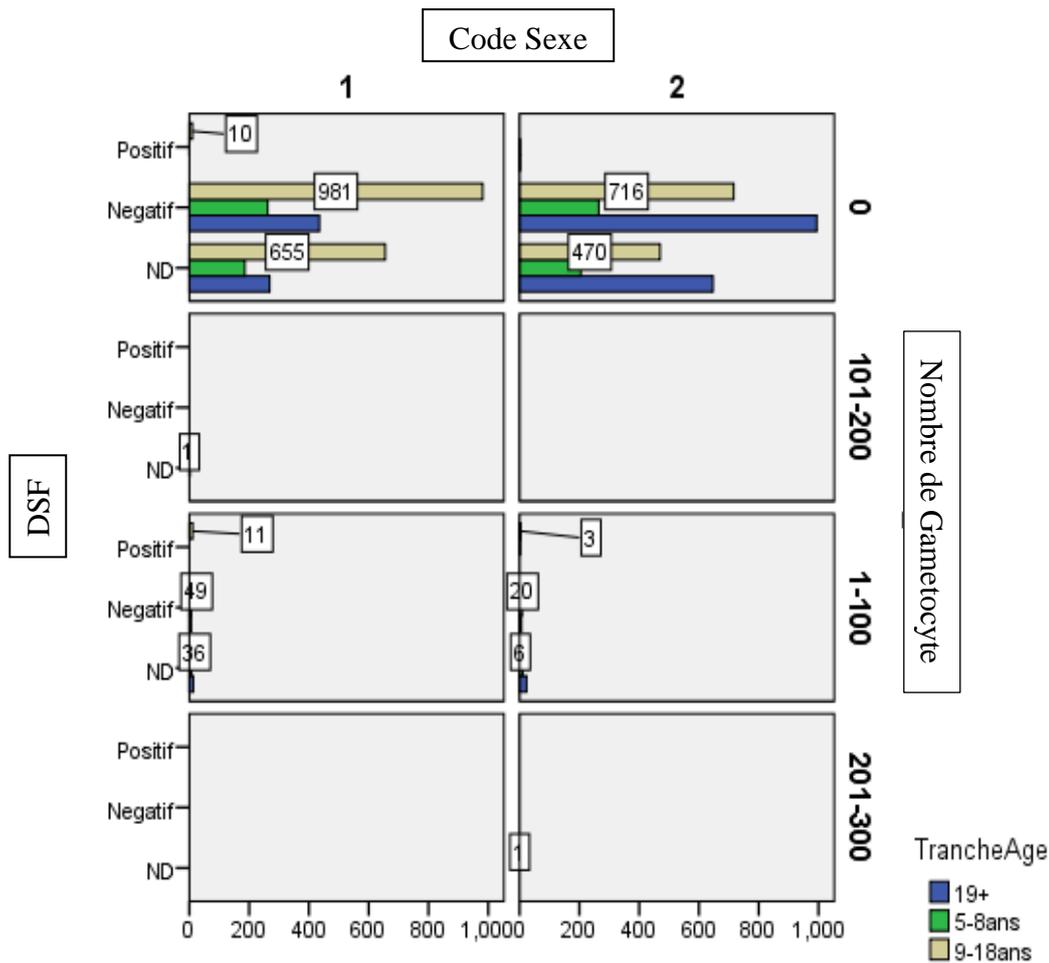


Figure 6: Potentiel de transmission par DSF selon la parasitémie et la tranche d'âge

Nous avons constaté un fort taux de transmission dans la tranche d'âge 9 - 18 ans ayant une parasitémie nulle (n=9) ou entre 1-1000 (n=15) trophozoïtes de *P. falciparum* à la microscopie optique.

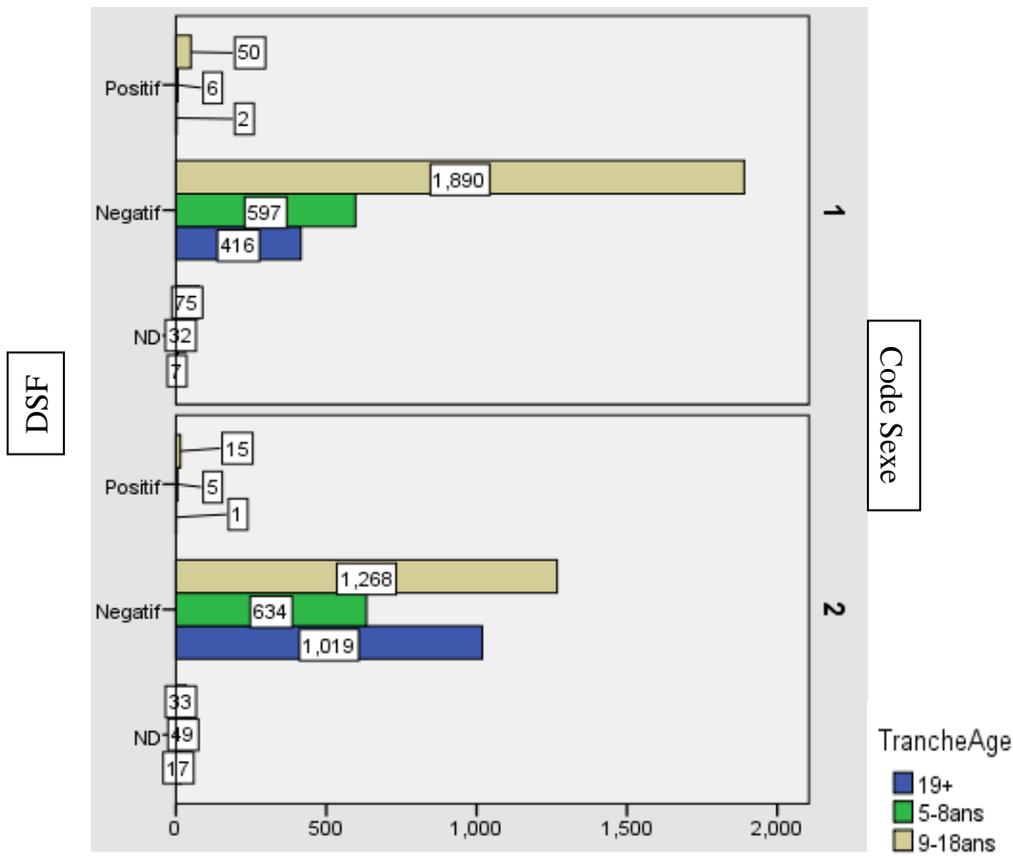


Légende : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure 7 : Potentiel de transmission par DSF selon la gamétocytémie, le sexe et la tranche d'âge en 2018 à Bancoumana.

La tranche d'âge 9 - 18 ans de sexe masculin ayant une gamétocytémie nulle (n=10) ou compris entre 1-100 avaient le plus grand nombre de DSF positif comparé à ceux ayant une gamétocytémie de plus de 100 gamétocytes observés au microscope optique ($p < 0,001$).

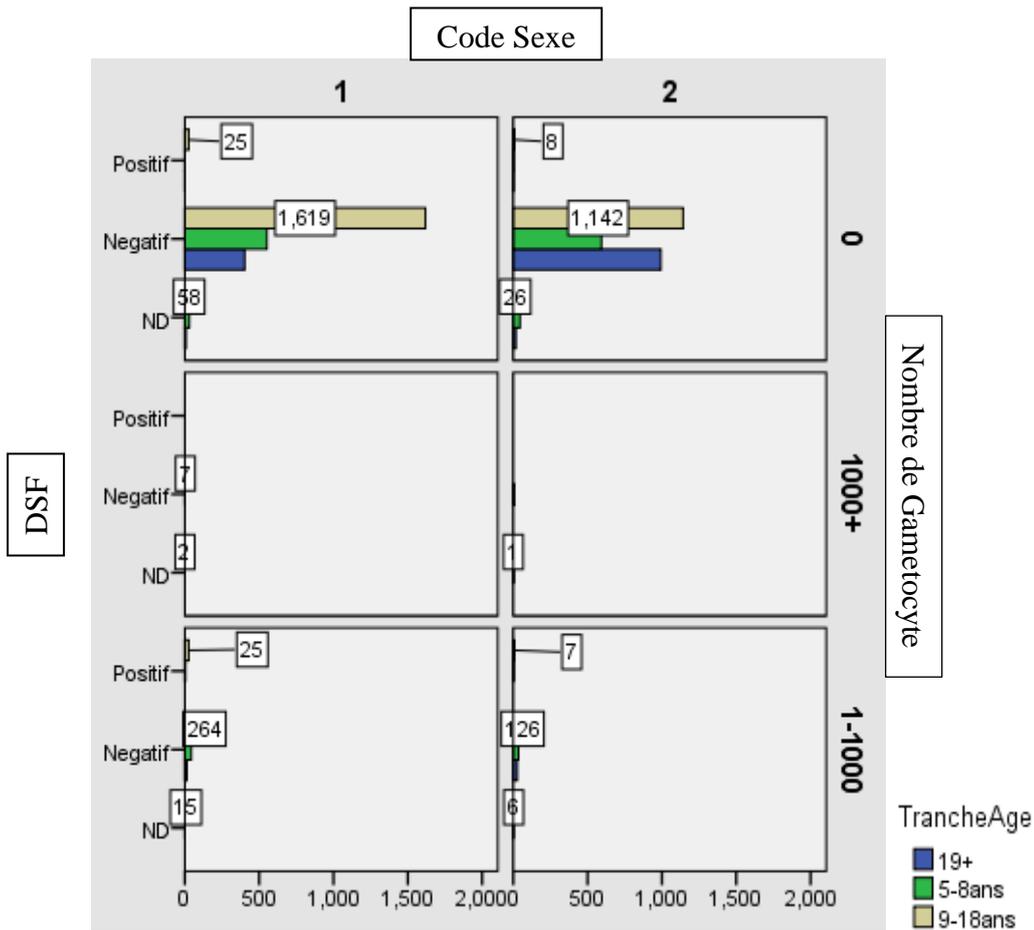
➤ Données de la transmission mesurée par DSF à Bancoumana en 2019 :



Légende : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure 8 : Potentiel de transmission mesuré par DSF selon le sexe, la tranche d'âge en 2019 à Bancoumana

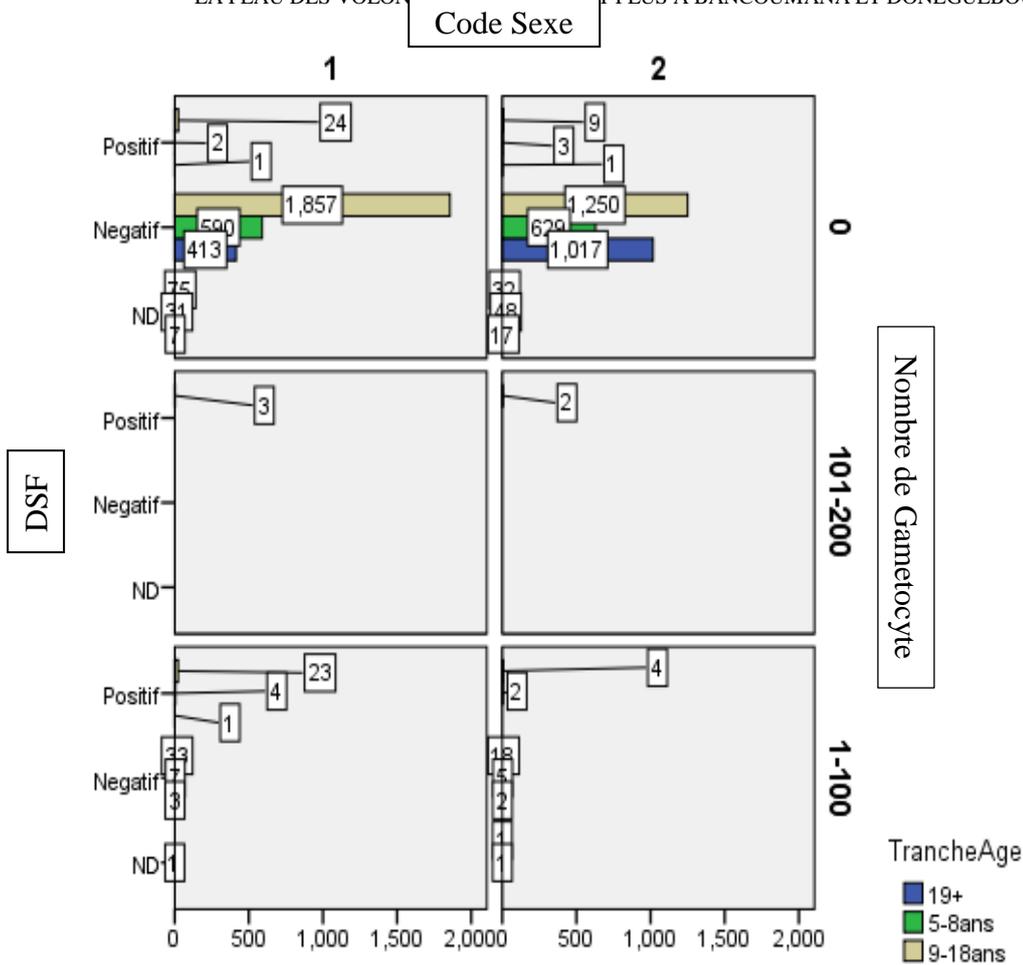
Le sexe masculin et la tranche d'âge de 9 - 18 ans avait le plus grand nombre de DSF positif comparé au sexe féminin ($p < 0,001$).



Légende : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure 9 : Potentiel de transmission par DSF selon la parasitémie et la tranche d'âge

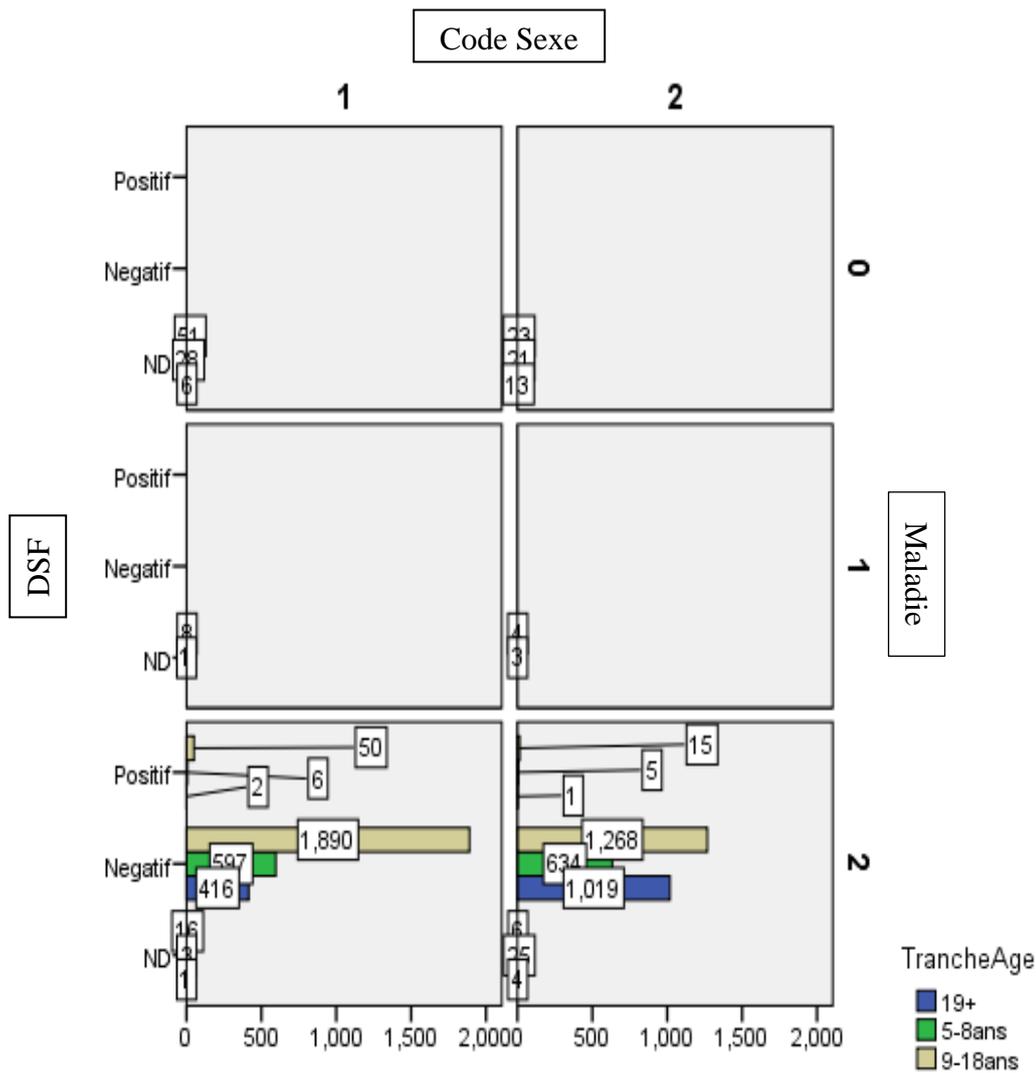
En 2019 nous avons constaté un fort taux de transmission dans la tranche d'âge 9 - 18 ans ayant une parasitémie nulle (n=33) ou entre 1-1000 (n=32) trophozoïtes de *P. falciparum* à la microscopie optique.



Légende : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure10 : Potentiel de transmission par DSF selon la gamétocytémie, le sexe et la tranche d'âge.

En 2019 la tranche d'âge 9 - 18 ans de sexe masculin ayant une gamétocytémie nulle (n=40) ou compris entre 1-100 (n=34) avaient le plus grand nombre de DSF positif comparé à ceux ayant une gamétocytémie de plus de 100 gamétocytes observés au microscope optique ($p < 0,001$).



Légende :

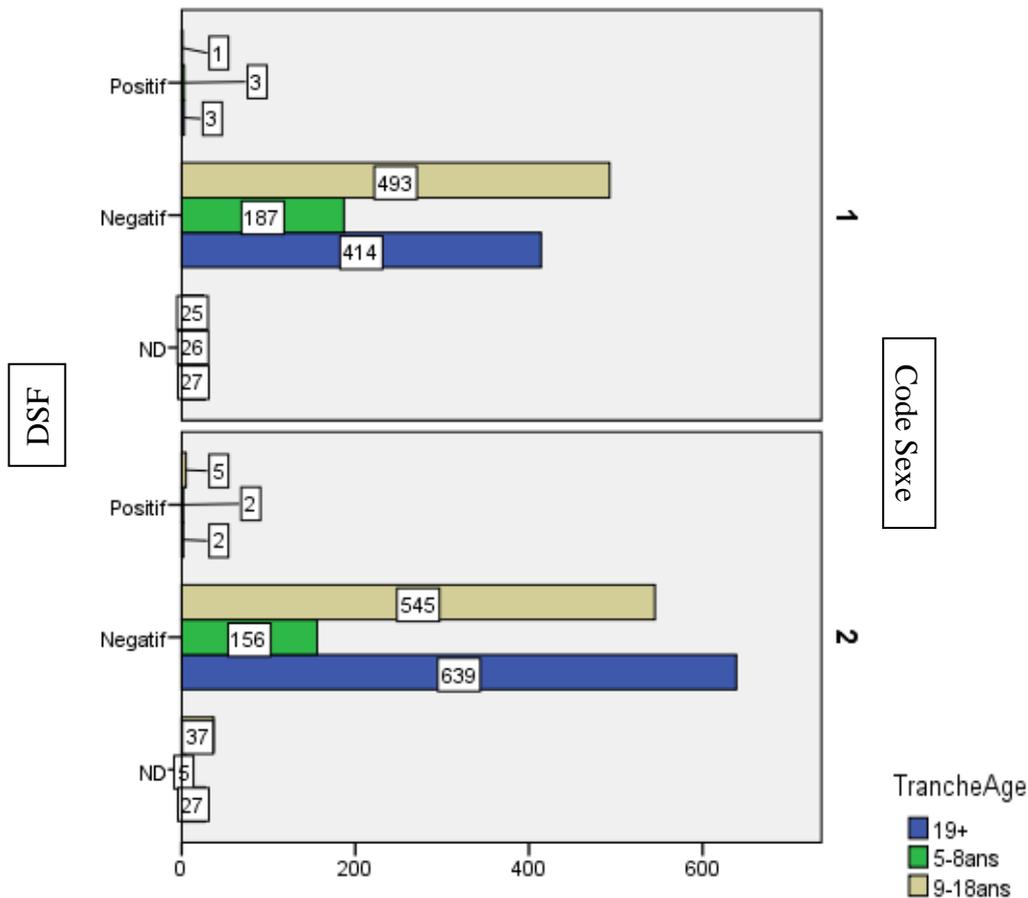
Maladie : 0= Non fait ; 1= Présence de signe clinique ; 2= Absence de signe clinique

Code sexe : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure 71 : Potentiel de transmission par DSF selon la présence de signes cliniques du paludisme, le sexe et la tranche d'âge.

En 2019 tous les DSF positif concernaient les sujets ne présentant pas un paludisme clinique et plus fortement ceux de sexe masculin de la tranche d'âge 9 - 18 ans. Cela s'explique par le fait que les sujets présentant du moins un signe clinique du paludisme n'étaient pas éligibles à DSF.

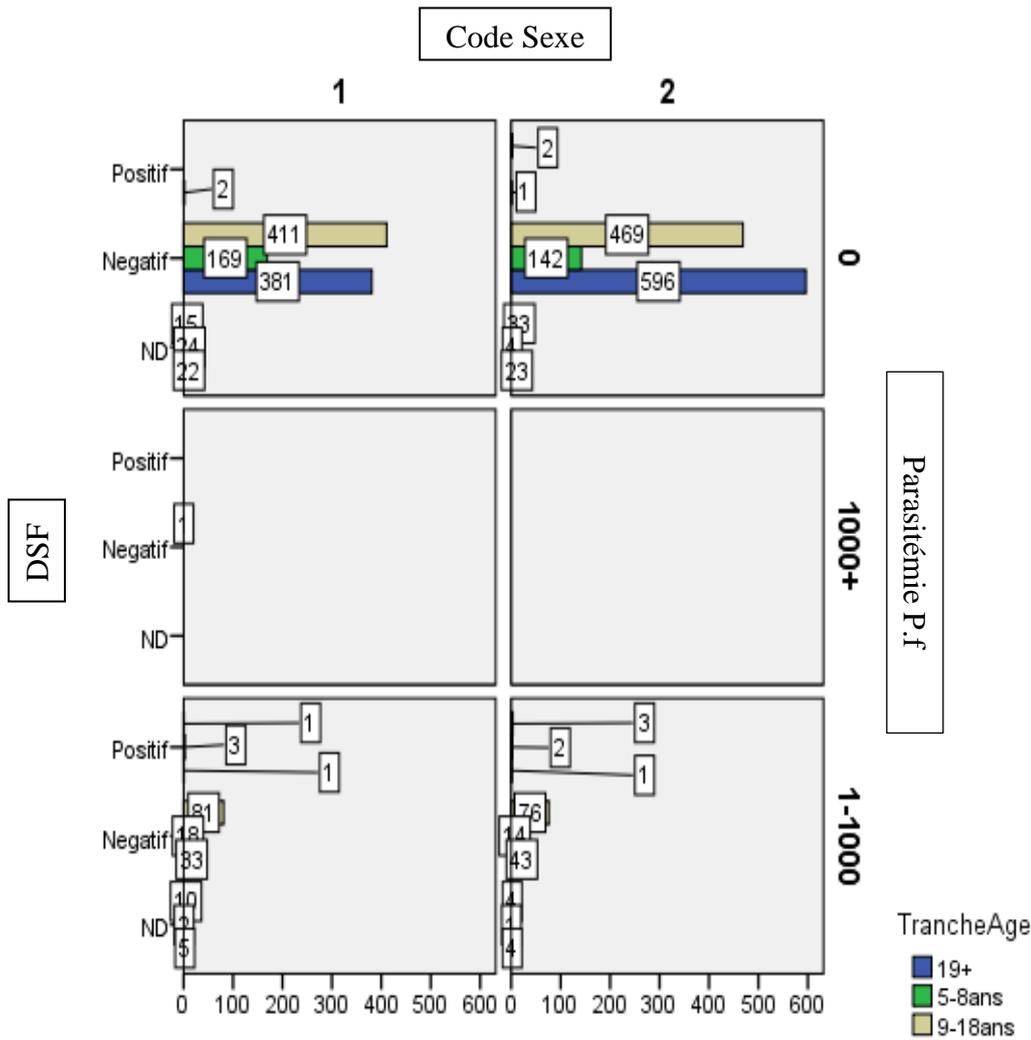
➤ Données de la transmission mesurée par DSF à Donéguebougou en 2019 :



Légende : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure12 : Potentiel de transmission mesuré par DSF selon le sexe, la tranche d'âge en 2019 à Donéguebougou.

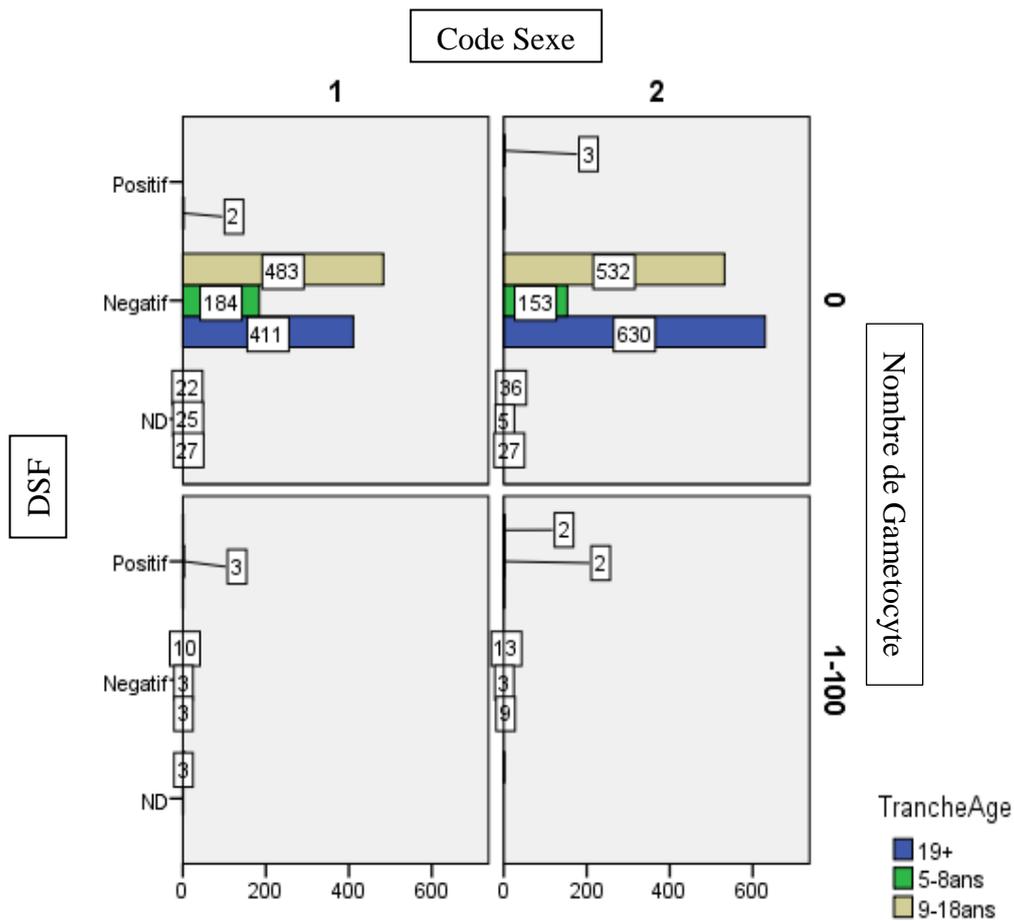
A Donéguebougou nous n'avons pas observé une tendance de différence statistiquement significative en termes de potentiel de transmission selon le sexe ($p=0,4$).



Légende : 1=Masculin, 2=Féminin

Figure13 : Potentiel de transmission par DSF selon la parasitémie et la tranche d'âge

A Donéguébougou en 2019 nous avons constaté que les tranches d'âge ayant une parasitémie nulle (n=5) ou entre 1-1000 (n=11) trophozoïtes de *P. falciparum* à la microscopie optique avaient un pouvoir de transmission plus élevé compare à ceux ayant une parasitémie de plus de 1000 trophozoïtes de *P. falciparum* ($p < 0,001$).



Légende : 1=Masculin ; 2=Féminin

Figure14 : Potentiel de transmission par DSF selon la gamétocytémie, le sexe et la tranche d'âge.

Les sujets ayant une gamétocytémie nulle ou inférieure ou égale à 100 avaient un potentiel plus élevé de transmission que ceux ayant une plus forte gamétocytémie ($p < 0,001$).



COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Dans notre étude, le sexe féminin prédomine à Bancoumana et Donéguébougou avec un sexe ratio respectivement à **0,84 et 0,82**.

Nous avons observé que la prévalence du paludisme à Bancoumana était 14% chez les 5 – 8 ans, 19% chez les 9 – 18 ans et 11% chez les 19 ans et plus. Par contre à Donéguébougou, la prévalence du paludisme était 2% chez les 5 – 8 ans, 29% chez les 9 – 18 ans et 16% chez les 19 ans et plus.

Une étude menée par Assadou et al a trouvé une prévalence de 32 - 45% en Octobre 2011 et 2012 dans la tranche d'âge de 5 - 14 ans à Bancoumana (28).

Dans notre étude nous avons observé que la parasitémie à *Plasmodium falciparum* était dépendante de l'âge avec une densité parasitaire moyenne plus élevée chez les moins âgés (5 – 8 ans) comparés aux 9 - 18 ans et 19 ans et plus. Un résultat similaire avait été trouvé par Christophe et al. à l'Institut Pasteur de Dakar (Sénégal) en 1996 (29). Nous pouvons expliquer cela par le fait que l'état de prémunition n'est pas encore bien établi chez les moins âgés.

Dans notre étude nous n'avons pas observé une différence significative en terme de la parasitémie selon le sexe par contre nous avons observé que le sexe masculin de la tranche d'âge 9 – 18 ans (14,9% à Bancoumana et 0,4% à Donéguébougou) et 5 – 8 ans (4,9% à Bancoumana et 4,4% à Donéguébougou) avaient un potentiel de transmission (mesuré par DSF) plus élevé que le sexe féminin 9 – 18 ans (4,4% à Bancoumana et 2,4% à Donéguébougou) et 5 – 8 ans (4,1% à Bancoumana et 2,9 à Donéguébougou) sur les deux sites d'études. Notre résultat corrèle avec celui trouvé par Assadou et al en Novembre 2011 où le taux de portage des gamétocytes était plus élevé dans le groupe d'âge de 5 à 14 ans (13,2%) (28). Un résultat similaire a été trouvé lors d'une étude à Bancoumana, la même année par Sacko (30).

Nous avons également observé que les sujets ayant une parasitémie nulle ou comprise entre 1-1000 trophozoïtes de *Plasmodium* et une gamétocytémie nulle ou comprise entre 1-100 gamétocytes avaient un potentiel de transmission plus élevé comparé à ceux ayant une forte parasitémie, une gamétocytémie de plus de 100. Sacko et al aussi trouvent une plus forte prévalence en gamétocyte dans la tranche d'âge 9 – 18 ans suivi de 5 – 8 ans en 2019 à Bancoumana (30). Toutefois nos résultats indiquent qu'une parasitémie plus forte ou une gamétocytémie plus élevée n'impliquent pas une plus grande transmission.

Le pouvoir de transmission plus important chez les 5 – 8 ans et 9 – 18 ans peut être lié à l'immaturation de la prémunition mais également au fait que ces tranches d'âge sont plus exposées aux piqûres de moustiques du fait de leurs mobilités plus élevées et aussi qu'ils ne sont pas concernés par le programme de distribution de moustiquaire. Mais une exploration plus poussée doit être menée pour l'identification de bio-marqueurs de la capacité de transmission du paludisme.

Ouédraogo et al. a trouvé en 2009, une corrélation positive entre la densité de gamétocytes et le taux d'infection par les moustiques (31).

Selon Schneider et al., en 2007, les densités élevées de gamétocytes n'entraînent pas nécessairement une infection par les moustiques tandis que les individus à faible densité qui ne portent aucun gamétocyte observable à la microscopie se sont révélés infectieux (32).

Cette hétérogénéité dans l'infection par les moustiques selon Pichon et al. en 2000 peut résulter en partie d'un biais d'échantillonnage, les échantillons étant généralement prélevés par ponction veineuse, mais il peut y avoir une localisation ou un regroupement spécifique de gamétocytes dans le système vasculaire humain au cours d'un repas sanguin (33).



CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

VII. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

1. CONCLUSION

La mise au point de nouveaux outils de lutte contre le paludisme comme les TBV nécessite une meilleure connaissance de la transmission du paludisme.

La mesure de la transmission du paludisme au niveau communautaire par la technique de gorgement direct sur la peau semble un préalable indispensable à l'échantillonnage dans l'évaluation des vaccins bloquant la transmission (TBV).

Les résultats de cette étude indiquent que la parasitémie à *Plasmodium falciparum* était dépendante de l'âge avec une fréquence plus élevée chez les moins âgés (5 – 8 ans) comparés aux 9 - 18 ans et 19 ans et plus. Nous avons également observé que les sujets ayant une parasitémie nulle ou comprise entre 1-1000 trophozoïtes de Plasmodies et une gamétocytémie nulle ou comprise entre 1-100 gamétocytes avaient un potentiel de transmission plus élevé comparé à ceux ayant une plus forte parasitémie, et/ou une plus forte gamétocytémie. Dans notre étude nous n'avons pas observé une différence significative en termes de la parasitémie selon le sexe par contre nous avons observé que le sexe masculin de la tranche d'âge 9 – 18 ans et 5 – 8 ans avaient un potentiel de transmission (mesuré par DSF) plus élevé que le sexe féminin 9 – 18 ans et 5 – 8 ans sur les deux sites d'études. Ces résultats nous ont montré l'importance des groupes d'âge pour un meilleur choix dans l'échantillonnage des futurs essais de vaccins bloquant la transmission au niveau communautaire.

2. RECOMMANDATIONS

A l'issu de cette étude et vu nos résultats nous recommandons :

➤ **Aux chercheurs :**

- De mener des études similaires pour faciliter l'échantillonnage dans les futurs essais de vaccins bloquant la transmission.
- D'explorer encore plus la transmission du paludisme en menant des études pour l'identification de bio-marqueurs de la capacité de transmission du paludisme.

➤ **Aux populations des sites d'étude :**

- De bien renforcer la coopération avec les équipes de recherche afin d'accélérer la lutte contre le paludisme

ANNEXES

1. Procédures standard opératoires (SOP) de la goutte épaisse

❖ Principe :

La goutte épaisse consiste à réaliser un étalement épais de sang circonscrit dans un cercle d'environ un centimètre de diamètre sur une lame porte-objet dégraissée. C'est la méthode standard pour le diagnostic parasitologique du paludisme. La goutte épaisse permet d'identifier l'espèce plasmodiale, le stade de développement et de déterminer la densité parasitaire.

❖ Matériels :

- Microscope binoculaire et accessoires (source électrique, stabilisateur, housse de protection),
- Lames porte-objet propres et dégraissées,
- Lancettes stériles,
- Marqueur indélébile ou crayon de papier,
- Alcool à 70% ou alcool pad,
- Solution mère de Giemsa,
- Coton hydrophile ou compresse,
- Eau désionisée ou Eau distillée,
- Comprimés tampon pH=7.2 au besoin,
- Minuterie,
- Compteur,
- Boîte à lame type OMS,
- Huile d'immersion,
- Papier lentille,
- Papier hygiénique,
- Bac de coloration,
- Sèche-cheveux,
- Eprouvettes graduées,
- Râtelier,
- Gants nitriles,
- Bavette,
- Blouse de laboratoire,
- Poubelles,

- Micropipette,
- Distributeur de goutte de sang,
- Autres (table, chaise, stylos, fiches de report de résultat et calculatrice).

❖ **Mesures de sécurité :**

Les précautions universelles de sécurité au laboratoire doivent être respectées, particulièrement le port de la blouse, la bavette et les gants lors des manipulations de produits biologiques, les précautions d'emploi du matériel coupant.

❖ **Procédures :**

- **Réalisation de la goutte épaisse**

- ***Goutte épaisse à partir d'une ponction digitale au talon ou le gros orteil (dans le cas du nourrisson < 6 mois) :***

- a. Installer le sujet en position confortable
- b. Informer le sujet de ce qui va être fait
- c. Prendre une lame propre et dégraissée
- d. Incrire sur la bordure de la lame : la date, le numéro d'étude ou le nom du sujet, le jour de suivi et les initiales du technicien à l'aide d'un marqueur indélébile ou d'un crayon de papier
- e. Nettoyer la partie choisie, soit le doigt, soit le gros orteil, soit le talon avec un tampon d'alcool. Nettoyer après avec du tampon sec et s'assurer d'avoir enlevé toute trace d'alcool
- f. A l'aide de la lancette stérile, piquer la partie choisie, d'un mouvement rapide et contrôlé
- g. Presser et essuyer la première goutte de sang avec le tampon sec
- h. Presser et déposer ensuite une goutte de sang (environ 10µl) au milieu de la lame
- i. Maintenir fermement le tampon sec sur le point de piqûre pendant au moins 3 minutes pour assurer l'hémostase
- j. Prendre une seconde lame propre et placer un des angles au milieu de la goutte de sang. Imprimer des mouvements de rotation concentriques de l'intérieur vers l'extérieur pour défibriner et étaler uniformément la goutte jusqu'à atteindre un diamètre de 1cm environ
- k. Ne pas utiliser le même angle de lame pour étaler deux gouttes différentes
- l. Placer la lame porte-objet avec la goutte épaisse à l'horizontale dans la boîte à lames de type OMS, à l'abri des insectes, de la chaleur et de la poussière. La

chaleur et l'alcool peuvent provoquer une fixation des globules rouges et altérer la qualité de la goutte épaisse. Laisser sécher 2 heures. Ce temps de séchage est nécessaire pour assurer une adhérence suffisante des cellules sur la lame et les décollements au moment de la coloration

m. En cas d'urgence, la lame peut être séchée dans les 30 minutes en utilisant un sèche-cheveux ou ventilateur.

- ***Goutte épaisse à partir du sang collecté dans un tube avec anticoagulant (EDTA par exemple) :***

- a. Mélanger lentement le sang et l'anticoagulant
- b. Inscrire sur la bordure de la lame : la date, le numéro d'étude du participant, le jour de suivi et les initiales du technicien à l'aide d'un marqueur indélébile ou d'un crayon papier
- c. A l'aide d'une micropipette, déposer 10µl de sang sur la lame propre dégraissée. Et suivre les étapes j-m du chapitre précédent
- d. A l'aide d'un distributeur d'échantillons, déposer 10µl de sang environ sur la lame en plongeant le distributeur dans le bouchon du tube et renverser le sang homogénéisé pour avoir la goutte de sang. Et suivre les étapes j-l du chapitre précédent.

- ***Goutte épaisse à partir du sang dans les tubulures après un prélèvement veineux :***

- a. Retirer le tube de l'adaptateur
- b. Desserrer la partie qui relie la tubulure de l'aiguille de l'adaptateur et à l'aide du bout du doigt, faire un mouvement de fermeture et d'ouverture et laisser tomber une goutte de sang d'environ 10µl sur la lame propre. Et suivre les étapes j-l du chapitre précédent.

• **Coloration de la goutte épaisse :**

- a. La solution fraîche de travail de Giemsa doit être préparée chaque jour. On doit s'assurer qu'une solution préparée de Giemsa ne dure pas plus de 06 heures avant son usage. Ne pas dépasser 02 chargements pour un bac de coloration.
- b. S'assurer que la date de péremption de la solution mère de Giemsa est valide et vérifier l'absence des cristaux. Sinon, jeter le Giemsa périmé ou contenant des cristaux et ouvrir un nouveau flacon.

- c. Diluer la solution de Giemsa mère dans l'eau désionisée (pH=7.2) ou distillée en réalisant une concentration de 10%.
- d. Placer les lames à colorer dans le bac de coloration et les immerger entièrement et délicatement avec la solution de travail Giemsa du jour. Faire couler lentement la solution de travail de Giemsa pour éviter un flux brusque. Ou plonger les lames dans la solution de travail de Giemsa.
- e. Programmer la minuterie et déclencher la marche.
- f. Le temps de coloration avec la solution de Giemsa de 10% est de 15-20 minutes.
- g. A la fin du temps de coloration (indiqué par la sonnerie de la minuterie), rincer délicatement les lames à l'eau désionisée ou de l'eau propre en évitant les jets d'eau forts.
- h. Enlever les lames du bac de coloration, les placer sur le râtelier et laisser sécher complètement à la température ambiante. En cas d'urgence, les lames colorées peuvent être séchées en utilisant un sèche-cheveux ou un ventilateur.
- i. Après séchage, s'assurer que les lames ont été bien colorées en regardant au travers, l'écran d'une montre : pour une bonne goutte épaisse, laissant voir les aiguilles de la montre.

NB : Une goutte épaisse réalisée doit être colorée dans les 48 heures

- **Lecture au microscope et quantification de la charge parasitaire :**
 - a. La goutte épaisse est lue à l'aide d'un microscope binoculaire, à l'objectif x100 à immersion, au grossissement 1000.
 - b. La lame doit être parcourue de façon systématique horizontalement ou verticalement (lecture en zig zag).
 - c. En cas de présence de parasites, l'espèce doit être déterminée ainsi que le nombre de parasites.
 - d. Les parasites et les leucocytes sont comptés simultanément par champ, à l'aide d'un compteur manuel adapté. Le nombre de parasites est compté sur 200 leucocytes. Le comptage de leucocytes ne commence qu'après avoir vu un parasite.
 - e. Si le champ est bourré de parasites (vue d'apparence), on divise le champ par deux pour compter les parasites d'une partie, tout en comptant tous les

leucocytes du champ. Après le comptage des 200 leucocytes, le nombre de parasite est multiplié par deux.

f. Une lame est dite négative seulement après avoir parcouru au moins 100 champs. Le comptage par champ commence dès le 1^{er} champ et s'arrête dès l'identification de parasite.

g. Au cas où la formule sanguine est connue avec le nombre de leucocytes du sujet, on utilise ce nombre dans la formule suivante pour quantifier la charge parasitaire : $P = N \times GB/L$

P est le nombre de parasites par mm³ de sang

N est le nombre de parasites comptés sur L leucocytes

L est le nombre de leucocytes comptés (200)

GB est le nombre de leucocytes (globules blancs) dans la formule sanguine du sujet

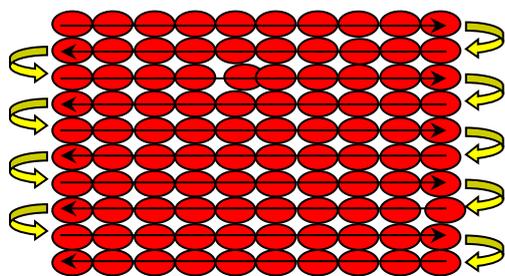
h. Si le nombre exact de leucocytes du sujet n'est pas connu, on assume que ce nombre est égal à 8000 et la formule de calcul de la parasitémie devient si L=200 :

$$P = N \times 8000 / (200) = N \times (40)$$

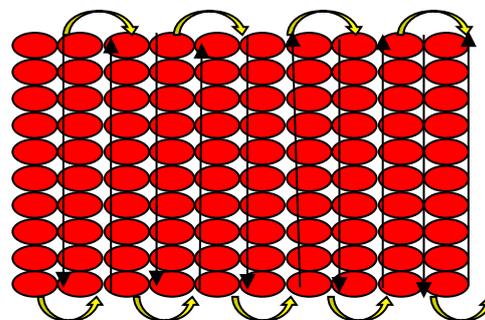
Les termes P, N gardent la même signification que plus haut.

NB : Pour une goutte épaisse hyper chargée et uniformément répartie, diviser le champ par 2 ou par 4 respectivement pour un champ visiblement supérieur à 300 et 400 parasites en comptant les parasites de 1/2 ou 1/4 et tous les leucocytes du champ, jusqu'à obtenir 1000 leucocytes. Puis, multiplier le nombre de parasites par 2 ou 4 pour obtenir le nombre total de parasite sur 1000 leucocytes.

Les parasites asexués (*Plasmodium*) sont lus sur 200 leucocytes, et les parasites sexués (*gamétocytes*) sont lus sur 1000 leucocytes.



Sens de lecture d'une lame en horizontal (1)



Sens de lecture d'une lame en vertical (2)

Figure 6 : Technique de lecture d'une lame

• Report des résultats :

Le résultat pour chaque goutte épaisse lue sera noté comme positif lorsque les formes asexuées sont retrouvées et négatif lorsque ces formes ne sont pas retrouvées même si les formes sexuées sont présentes. La présence de ces formes sexuées doit être signalée dans tous les cas. En cas de résultat positif, l'espèce de *Plasmodium* et la charge parasitaire seront notées également. Tous les résultats seront notés sur les feuilles de paillasse et dans les registres appropriés.

NB : La valeur normale attendue est une goutte négative.

• Qualités de la goutte épaisse :

Les éléments suivants permettent d'apprécier la qualité d'une goutte épaisse :

- L'épaisseur de la goutte : on doit pouvoir lire le cadran d'une montre à travers la goutte épaisse avant et après la coloration.
- Au microscope, les ombres des globules rouges sont absentes sur une goutte épaisse de bonne qualité, traduisant une bonne déshémoglobination.

• Annexes :

Feuille de paillasse / Registre pour le report des résultats de la goutte épaisse,
Planche en couleur des caractères morphologiques et tinctoriaux des plasmodies,
Planche de confection et de lecture d'une goutte épaisse.

❖ Avantages et inconvénients

- **Avantages** : La GE est sensible et donne une concentration parasitaire d'environ 20 fois plus que celle d'un frottis et peut détecter des parasites au taux extrêmement faible (5 parasites/ μ l de sang) soit une parasitémie de 0.0001%
- **Inconvénients** : lente et diagnostic d'espèce difficile.

1. Procédures standard opératoires (SOP) du gorgement direct sur peau (DSF) :

a. But :

Évaluer l'efficacité de la transmission bloquant les vaccins et les molécules.

b. Définition :

Alimentation directe (DF) : alimentation directe (peau) des volontaires utilisant des femelles de la colonie de l'insectarium.

Test d'alimentation membranaire directe (DMFA) : alimentation membranaire (membrane pourrait être soit parafilm, soit membrane Baudruche) à l'aide de parasites provenant de porteurs de gamétocytes et de moustiques *An. gambiae* élevés en laboratoire

c. Référence :

2008 Mouctar Diallo, Abdoulaye M Touré, Sekou F Traoré, Oumou Niaré, Lalla Kassambara, Awa Konaré, Mamadou Coulibaly, Magaran Bagayogo, John C Beier, Richard K Sakai, Yéya T Touré et Ogobara K Doumbo. Évaluation et optimisation de l'alimentation membranaire par rapport à une alimentation directe comme un essai pour l'infectiosité Malaria Journal 2008, 7:248 doi:10.1186/1475-2875-7-248

2000 Bonnet S, Gouagna C, Safeukui I, Meunier JY, Boudin Comparaison de l'alimentation par membrane artificielle avec alimentation directe de la peau pour estimer l'infectiosité des porteurs de gamétocytes *Plasmodium falciparum* chez les moustiques. Trans R Soc Trop Med Hyg. Jan-Feb;94(1):103-6.

d. Matériaux, instruments et équipement :

- Bain d'eau circulateur de chauffage
- Mangeoires
- Thermomètre
- Parafilm
- Tubes pour connecter les mangeoires entre eux
- Adaptateur pour connecter les mangeoires au bain circulateur chauffé
- Centrifugeuse
- Tubes (15 ml, 50 ml)
- Moustiques
- Tasses
- Porte-gobelets
- Pipettes 1000mL
- Extrémités de barrière d'aérosol de 1mL
- 1,0 ml de cryovial, 1,5 ml d'Eppendorf ou tube similaire
- Tampon RLT+
- Expéditeur cryogénique
- Élastique
- Bande
- Coton

e. Sécurité et précautions :

- Porter des gants et un manteau de laboratoire

- Manipuler les mangeoires avec soin
- Avoir des médicaments anti-allergiques au cas où les aliments directs entraîneraient une allergie (p. ex. Eurax en pommade)

f. Procédures :

➤ **Préparations pré-alimentation des moustiques : Jour 0**

- Couvrir les petites tasses en papier (2 par bénévole) d'un filet et les fixer à l'aide d'un élastique et d'un morceau de ruban adhésif. Faire un trou au bas de chaque tasse fixée par une boule de coton recouverte d'un morceau de ruban adhésif
- Étiquetez chaque tasse avec : date d'émergence, méthode d'alimentation (directe, membrane), pièce d'identité volontaire, date d'alimentation, site de collecte, etc.
- Transférer trente moustiques femelles de 3 à 5 jours dans de petites tasses : 6 tasses pour l'alimentation membranaire et 2 tasses pour l'alimentation directe de la peau.
- Mettre une boule de coton trempée avec 10% de solution de sucre sur le dessus de chaque tasse. Retirer la solution de sucre 10-12 heures avant les expériences d'alimentation (à 17h-18h) et remplacer par des boules de coton trempées dans de l'eau.

➤ **Alimentation directe : Jour 1**

- Préparer toutes les étiquettes nécessaires pour les moustiques nourris au DSF recueillis au moment 0 (cela peut être fait avant le jour de l'alimentation). L'étiquette doit inclure : Id participant, Analyse, Jour d'alimentation, Heure. Voir pièce jointe par exemple d'étiquette.
- Retirer les boules de coton imbibées d'eau des tasses immédiatement avant le début de l'alimentation.
- Appliquer 2 tasses de 30 moustiques femelles directement sur les veaux nus pendant 15 min.
- Appliquer Eurax® contre les réactions cutanées si elles se produisent.
- Retirer les femelles non fed des lots à l'aide d'aspirateurs buccaux.
- Conservez 3 moustiques nourris du DSF de chaque participant.
- Placez les moustiques dans 1,0 ml de cryovial, 1,5 ml d'Eppendorf, ou tube similaire avec tampon RLT+ de 200ul.
- Conserver les échantillons de moustiques dans un expéditeur cryogénique jusqu'à ce qu'ils soient transportés à Bamako pour y être entreposés à -80°C.
- Fournir aux moustiques nourris une solution sucrée (10 %). Laissez les moustiques se reposer pendant 24 heures avant d'être transportés à Bamako.

- Gardez les moustiques nourris dans la zone de l'insectarium sécurisée sur la solution de sucre, avec la boule quotidienne de coton imbibé de solution de sucre, jusqu'à ce que :
- Environ septième ou huitième jour après l'alimentation lorsque les moustiques seront disséqués pour les dénombrements oocystes.

➤ **Alimentation par membrane directe : Jour 1**

- Retirer les boules de coton imbibées d'eau des tasses immédiatement avant le début de l'alimentation.

- Allumez le bain d'eau du circulateur chauffant avant de laisser la température atteindre 37°C avant le début de l'alimentation (préchauffage).

- Alimentations interconnectées avec tubes en caoutchouc flexibles. Connectez-les à un bain d'eau circulateur de chauffage (HAAKE P5 ThermoScientific®).

Découper des carrés de membrane (parafilm ou Baudruche). Étirez soigneusement chaque membrane de pièce dans une couche encore mince. Placez le morceau étiré de membrane au-dessus de la plus grande ouverture de chacune des mangeoires de membrane.

- Placer les tasses avec des moustiques dans un porte-gobelet en bois. Placez une mangeoire sur chaque tasse. Sécurisez-les en tapant le tube entre les mangeoires pour les maintenir en place.

- Recevez les échantillons dans un bloc chauffant de l'équipe de traitement du sang. Avec les membres d'une équipe d'alimentation vérifier l'ordre de l'échantillon et enregistrer les numéros d'identification et tous les commentaires par conception expérimentale.

- Allumez la pompe en circulation avec la température réglée pour 40⁰ C et appuyez sur le bouton de circulation d'eau

- Vérifiez l'intégrité de la membrane (parafilm/Baudruch) des mangeoires. Remplacez-les au besoin

- À l'aide d'une pipette de 100mL avec une pointe de barrière d'aérosol de 1mL, mélanger les échantillons de sang et de plasma en pipetant doucement de haut en bas dans des tubes d'échantillons encore placés dans le bloc chauffant.

- Ajouter 300µl de sang par la plus petite ouverture de la mangeoire correspondant à l'échantillon d'alimentation #1 (Sang). Pour le reste des échantillons ajouter 260µl (le volume entier dans chaque tube Eppendorf pour les échantillons d'aliments #2 -#6). Appuyez doucement sur le côté des mangeoires pour enlever les bulles s'il y en a.

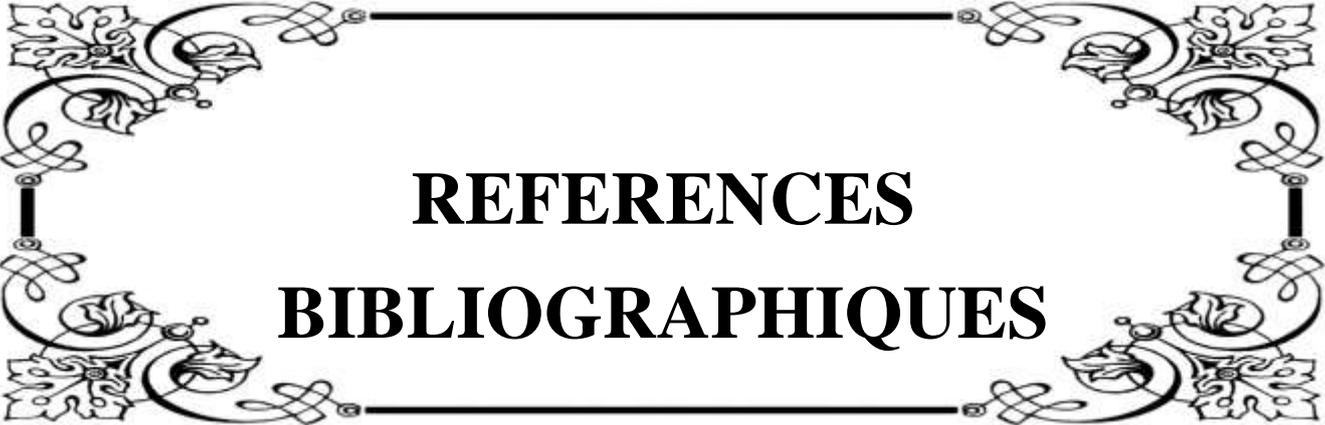
- Scotcher la mangeoire à la tasse et à la boîte du porte-gobelet pour assurer un contact étroit de toute la surface du parafilm avec le filet. Retirer l'étiquette du tube Eppendorf et la mettre sur la tasse correspondante
- Laissez les moustiques se nourrir pendant 30 min. Le temps d'alimentation des moustiques devrait être le même pour chaque tasse.
- Retirez la mangeoire de chaque tasse, sortez la tasse de la boîte en bois et placez-la dans le récipient en plastique où les tasses contenant des moustiques sont conservées. Tout en enlevant les mangeoires des tasses, utilisez une serviette en papier et un sac en plastique pour éviter la contamination de la boîte par du sang. Puis éteignez le bain de circulation de chaleur.
- Placer les tasses contenant des moustiques nourris dans une boîte ou un plateau, couvrir les tasses d'une serviette humide. Gardez les moustiques dans la pièce dédiée aux spécimens infectés
- Déconnecter la chaîne de mangeoires de la pompe en circulation et connecter les extrémités ouvertes du tube au-dessus du niveau d'eau pour éviter les fuites.
- Faire tremper les mangeoires dans une solution de chlore à 10 % pendant au moins une heure, assurez-vous de briser la membrane du parafilm sur les mangeoires.
- Rincer les mangeoires à l'eau du robinet, retirer le parafilm des mangeoires, puis les laisser dans l'eau pendant au moins 12 heures. Changer l'eau 2-3 fois
- Rincer à l'eau distillée et sécher avant la prochaine alimentation

➤ **Alimentation à membrane directe Enlever les moustiques non nourris : Jour2**

- Enlevez les moustiques non alimentés utilisant l'aspirateur de bouche
- Fournir aux moustiques une solution de sucre à 10 % et les couvrir d'une serviette humide (assurez-vous que la serviette n'est pas trop humide)

➤ **Alimentation à membrane directe Enregistrement des moustiques morts : Jour 3**

À partir du jour 3, enregistrez le nombre de moustiques morts une fois par jour (le jour 3-7). Au jour 8 disséquer les moustiques de toutes les tasses, sauf Plasma_feed échantillon #3 et Mab 4B7_feed échantillon #6. Le jour 14 disséquer les moustiques de ce dernier pour la détection des sporozoïtes (Voir SOP 0003-00 pour la dissection des glandes mi-intestinales et salivaires).



**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. world-malaria-report-2020-briefing-kit-fre.pdf [Internet]. [cité 2 août 2021]. Disponible sur: https://www.who.int/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/world-malaria-report-2020-briefing-kit-fre.pdf?sfvrsn=69c55393_7
2. Mali [Internet]. Severe Malaria Observatory. [cité 2 août 2021]. Disponible sur: <https://www.severemalaria.org/fr/pays/mali>
3. AnnuaireSLIS2018VFdu27avril.pdf [Internet]. [cité 4 janv 2022]. Disponible sur: <http://www.sante.gov.ml/docs/AnnuaireSLIS2018VFdu27avril.pdf>
4. ASTMH-2020-Abstract-Book.pdf [Internet]. [cité 26 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.astmh.org/getmedia/71a0e5e6-7c06-48a4-ab47-d50c4ec870a2/ASTMH-2020-Abstract-Book.pdf>
5. ASTMH-2019-Abstract-Book.pdf [Internet]. [cité 26 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.astmh.org/ASTMH/media/2019-Annual-Meeting/ASTMH-2019-Abstract-Book.pdf>
6. Mali treatment guidelines_0.pdf [Internet]. [cité 4 déc 2020]. Disponible sur: https://www.severemalaria.org/sites/mmv-smo/files/content/attachments/2017-07-25/Mali%20treatment%20guidelines_0.pdf
7. WHO | Seasonal malaria chemoprevention (SMC) [Internet]. WHO. World Health Organization; [cité 4 déc 2020]. Disponible sur: http://www.who.int/malaria/areas/preventive_therapies/children/en/
8. Druetz T. Evaluation of direct and indirect effects of seasonal malaria chemoprevention in Mali. *Sci Rep.* 25 2018;8(1):8104.
9. Druetz T, Corneau-Tremblay N, Millogo T, Kouanda S, Ly A, Bicaba A, et al. Impact Evaluation of Seasonal Malaria Chemoprevention under Routine Program Implementation: A Quasi-Experimental Study in Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;98(2):524- 33.
10. 06P65.pdf [Internet]. [cité 4 janv 2022]. Disponible sur: <http://www.kenya.net/fmpos/theses/2006/pharma/pdf/06P65.pdf>
11. paludisme.pdf [Internet]. [cité 4 déc 2020]. Disponible sur: <http://medecinetropicale.free.fr/cours/paludisme.pdf>
12. Dossou-Yovo J, Doannio JMC, Diarrassouba S. Préférences trophiques des vecteurs du paludisme dans la ville de Bouaké et dans les villages environnants de Côte d'Ivoire. :2.
13. Carnevale P, Robert V, éditeurs. Les anophèles: Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle [Internet]. IRD Éditions; 2009 [cité 26 janv 2022]. Disponible sur: <http://books.openedition.org/irdeditions/10374>
14. th0138755.pdf [Internet]. [cité 24 juill 2020]. Disponible sur: <http://doxa.u-pec.fr/theses/th0138755.pdf>

15. François KAMATE. Impact des polymorphismes de l'hémoglobine et du globule rouge sur la fréquence du Paludisme dans la commune rurale de Bancoumana (Mali). [Bancoumana]: Université des Sciences, des Techniques et Technologies de Bamako; 2012.
16. Allasseini BALAM. Epidémiologie du paludisme chez les scolaires de Doneguebougou durant l'année scolaire 2007-2008. [Donneguebougou]: Université des Sciences, des Techniques et Technologies de Bamako; 2010.
17. Epidémiologie du paludisme au Mali : étude de la chloroquinorésistance, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation de rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébriles - Sécheresse [Internet]. [cité 24 juill 2020]. Disponible sur: <http://www.secheresse.info/spip.php?article8553>
18. 23803.pdf [Internet]. [cité 21 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.santetropicale.com/Resume/23803.pdf>
19. Snow RW, Guerra CA, Noor AM, Myint HY, Hay SI. The global distribution of clinical episodes of Plasmodium falciparum malaria. *Nature*. mars 2005;434(7030):214- 7.
20. Lionnet F, Arlet J-B, Bartolucci P, Habibi A, Ribeil J-A, Stankovic K. Recommandations pratiques de prise en charge de la Drépanocytose de l'adulte. *Rev Médecine Interne*. 1 sept 2009;30:S162- 223.
21. OMS | Le Rapport sur le paludisme dans le monde 2019 en un clin d'oeil [Internet]. WHO. World Health Organization; [cité 10 oct 2020]. Disponible sur: <http://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2019/fr/>
22. Epidémiologie des maladies parasitaires. Tome 1, Protozooses - Christian Ripert [Internet]. [cité 26 juill 2020]. Disponible sur: <https://www.decitre.fr/livres/epidemiologie-des-maladies-parasitaires-9782743000769.html>
23. Lindblade KA, Steinhardt L, Samuels A, Kachur SP, Slutsker L. The silent threat: asymptomatic parasitemia and malaria transmission. *Expert Rev Anti Infect Ther*. juin 2013;11(6):623- 39.
24. The silent threat asymptomatic parasitemia and malaria transmission.pdf.
25. Traoré M. Fréquence des variantes d'hémoglobine et son impact sur la parasitémie à plasmodium, les paramètres hématologiques et biochimiques chez les volontaires ayant participé aux études de vaccin contre le paludisme Pfs25M-EPA/AS01 et Pfs230D1MEPA/AS01 à Bancoumana, Mali. 2019. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02334462>
26. Duffy P, Sagara I. Innocuité, immunogénicité et efficacité du vaccin Pfs230D1M-EPA / AS01, un vaccin bloquant la transmission du Plasmodium falciparum, dans le cadre d'un essai par désescalade d'âge chez les enfants et essai chez les membres de famille au Mali. 2019. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30061051/>
27. Duffy P, Sagara I. Essai de Phase 1 avec Escalade de Dose, en Double Aveugle, Randomisé, Contrôlé de la Tolérance et de l'Immunogénicité des Vaccins Pfs25M-

EPA/AS01 et Pfs230D1M_EPA/AS01, Vaccins Bloquant la Transmission du Plasmodium falciparum, à Dose Complète et Fractionnaire chez les adultes au Mali. 2018. <https://orcid.org/0000-0002-8555-9983>

28. Assadou MH, Sagara I, Healy SA, Guindo MA, Kone M, Sanogo S, et al. Malaria Infection and Gametocyte Carriage Rates in Preparation for Transmission Blocking Vaccine Trials in Bancoumana, Mali. *Am J Trop Med Hyg.* 12 juill 2017;97(1):183- 7.
29. Rogier C, Trape J-F, Commenges D. Evidence for an Age-Dependent Pyrogenic Threshold of Plasmodium falciparum Parasitemia in Highly Endemic Populations. *Am J Trop Med Hyg.* 1 juin 1996;54(6):613- 9.
30. Sacko L. Mesure de la transmission du paludisme au niveau communautaire par la technique de gorgement direct de Anopheles coluzzii sur la peau à Bancoumana, Mali. [Bamako, Mali]: Faculté de Pharmacie; 2021.
31. Ouédraogo AL, Bousema T, Schneider P, Vlas SJ de, Ilboudo-Sanogo E, Cuzin-Ouattara N, et al. Substantial Contribution of Submicroscopical Plasmodium falciparum Gametocyte Carriage to the Infectious Reservoir in an Area of Seasonal Transmission. *PLOS ONE.* 22 déc 2009;4(12):e8410.
32. Schneider P, Bousema JT, Gouagna LC, Otieno S, van de Vegte-Bolmer M, Omar SA, et al. Submicroscopic Plasmodium falciparum gametocyte densities frequently result in mosquito infection. *Am J Trop Med Hyg.* mars 2007;76(3):470- 4.
33. High heterogeneity in the number of Plasmodium falciparum gametocytes in the bloodmeal of mosquitoes fed on the same host - PubMed [Internet]. [cité 23 nov 2021]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11085230/>

Nom : TANGARA

Prénom : Mahamane

Titre : Etude de la transmission du paludisme à *Plasmodium falciparum* mesurée par gorgement direct sur la peau des volontaires de 5ans et plus à Bancoumana et Donéguébougou au Mali.

Année de soutenance : 2021

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de médecine et d'odontostomatologie

Secteur d'intérêt : Santé publique, paludisme

Résumé : Le paludisme est la première endémie parasitaire mondiale et constitue un problème majeur de santé publique. L'accroissement de la résistance des parasites aux médicaments antipaludiques et des moustiques aux insecticides suscitent une nouvelle approche. L'espoir se focalise sur les vaccins. Les efforts de développement de vaccin antipaludique se sont concentrés essentiellement sur trois étapes du cycle biologique de *P. falciparum* qui sont: la phase hépatique (l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes), la phase érythrocytaire (l'invasion des hématies par les mérozoïtes) et les vaccins bloquant la transmission. Les vaccins bloquant la transmission du paludisme (TBV) posent encore d'énormes difficultés dans l'évaluation sur le terrain. Aujourd'hui la technique de gorgement direct sur la peau (ou Direct Skin Feeding=DSF) est l'outil d'évaluation d'un TBV le plus proche des conditions naturelles (comparée à la technique de gorgement direct sur membrane). La mesure de la transmission à travers le DSF a l'avantage d'identifier les individus « réservoirs de parasites ». C'est dans ce cadre que cette étude se propose d'étudier l'impact de la parasitémie à *plasmodium* sur la capacité de transmission du paludisme mesuré par DSF chez des sujets d'au moins 5ans à Bancoumana et à Donéguébougou en utilisant le gorgement direct des moustiques sur la peau pour une meilleure évaluation des TBV. Entre Décembre 2018 et avril 2020, une étude longitudinale a été lancée dans les villages de Bancoumana, Donéguébougou et environnants au Mali pour examiner les dynamiques de la transmission naturelle du paludisme infection et la transmission à travers de multiples saisons dans ces sites où un Vaccin Bloquant la Transmission (TBV) a été testé. Environ 1 800 personnes âgées de 6 mois à 65 ans ont été inscrites dans des cohortes distinctes. Les volontaires de moins de 5 ans ou de plus de 65 ans avaient l'option de se faire enrôler soit dans la cohorte de génotypage ou de surveillance parasitaire. Une fois que la cohorte de DSF était achevée atteignant la taille cible (n=1800), l'enrôlement dans la cohorte DSF s'arrête en

ce moment, mais l'enrôlement des concessions et des concessions voisines avec tout autre volontaire de DSF a continué en acceptant des volontaires pour le génotypage et la surveillance parasitaire. Les résultats de cette étude indiquent que la parasitémie à *Plasmodium falciparum* était dépendant de l'âge avec un taux plus élevé chez les moins âgés 5 – 8 ans comparés aux 9 - 18 ans et 19 ans et plus. Nous avons également observés que les sujets ayant une parasitémie nulle ou comprise entre 1-1000 trophozoïtes de plasmodium et une gamétocytemie nulle ou comprise entre 1-100 gamétocytes avaient un potentiel de transmission plus élevé comparé à ceux ayant une forte parasitémie, une gamétocytemie de plus de 100. Dans notre étude nous n'avons pas observé une différence significative en terme de la parasitémie selon le sexe par contre nous avons observé que le sexe masculin de la tranche d'âge 9 – 18 ans et 5 – 8 ans avaient un potentiel de transmission (mesuré par DSF) plus élevé que le sexe féminin 9 – 18 ans et 5 – 8 ans sur les deux sites d'études. Ces résultats nous ont montré l'importance des groupes d'âge pour un meilleur choix dans l'échantillonnage des futurs essais de vaccins bloquant la transmission au niveau communautaire.

Mots clés : Paludisme, transmission, gorgement direct sur la peau et vaccin bloquant la transmission.

Last name: TANGARA

First Name: Mahamane

Title: Study of the transmission of *Plasmodium falciparum* malaria measured by direct gorging on the skin of volunteers aged 5 years and more in Bancoumana and Donéguébougou in Mali.

Year of defense: 2021

City of defense: Bamako

Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine and Odontostomatology

Area of interest: Public health, malaria

Summary: Malaria is the first parasitic endemic in the world and constitutes a major public health problem. The increasing resistance of parasites to antimalarial drugs and of mosquitoes to insecticides is prompting a new approach. Hope is focused on vaccines. Malaria vaccine development efforts have focused primarily on three stages of the *P. falciparum* life cycle: the liver phase (invasion of hepatocytes by sporozoites), the erythrocyte phase (invasion of red blood cells by merozoites), and transmission-blocking vaccines. Malaria transmission blocking vaccines (TBV) still pose enormous difficulties in field evaluation. Today, the Direct Skin Feeding (DSF) technique is the closest tool to assessing TBV under natural conditions (compared to the direct membrane feeding technique). The measurement of transmission through DSF has the advantage of identifying "parasite reservoir" individuals. It is within this framework that this study proposes to study the impact of plasmodium parasitemia on the transmission capacity of malaria measured by DSF in subjects aged at least 5 years in Bancoumana and Donéguébougou using direct gorging of mosquitoes on the skin for a better assessment of TBV. Between December 2018 and April 2020, a longitudinal study was launched in the villages of Bancoumana, Donéguébougou, and surrounding areas in Mali to examine the dynamics of natural transmission of malaria infection and transmission across multiple seasons in these sites where a Transmission Blocking Vaccine (TBV) was tested. Approximately 1800 individuals aged 6 months to 65 years were enrolled in separate cohorts. Volunteers younger than 5 years or older than 65 years had the option of enrolling in either the genotyping or parasite surveillance cohort. Once the DSF cohort was completed reaching the target size (n=1800), enrollment in the DSF cohort stopped at this time, but enrollment from concessions and neighboring concessions with any other DSF volunteers continued by accepting volunteers for genotyping and parasite surveillance. The results of this study indicate that *Plasmodium falciparum* parasitaemia was age-dependent

with a higher rate in the younger 5-8 year olds compared to the 9-18 year olds and 19 year olds and older. We also observed that subjects with zero or 1-1000 plasmodium trophozoites and zero or 1-100 gametocytes had a higher transmission potential compared to those with high parasitaemia, gametocytemia of more than 100. In our study we did not observe a significant difference in terms of parasitaemia by sex, but we did observe that males in the 9-18 and 5-8 age groups had a higher transmission potential (measured by DSF) than females in the 9-18 and 5-8 age groups at both study sites. These results showed us the importance of age groups for a better choice in sampling for future transmission-blocking vaccine trials at the community level.

Key words: Malaria, transmission, direct skin contact and transmission blocking vaccine.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être 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'honoraire. 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 !