



**FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO - STOMATOLOGIE**

**Année universitaire 2011- 2012 Thèse N °...../M**

**TITRE**

**ETUDE DE L'INFECTIVITE DES GAMETOCYTES DE  
*PLASMODIUM FALCIPARUM* CHEZ *ANOPHELES  
GAMBIAE S.L* ISSUS DE DIFFERENTS TYPES DE GITES  
LARVAIRES EN ZONE D'ENDEMIC PALUSTRE DE  
NANGUILABOUGOU**

**THESE**

**Présentée et soutenue publiquement le 30/01/2012  
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie**

Président : **Pr. Sékou F. TRAORE**  
**Mr. Abou Guimba TRAORE**

**Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine**

Membre (Diplôme d'Etat)

Membre : **Pr. Abdoulaye M. TOURE**

**Dr Seydou**

**DIARRA**

**Co-directeur : Pr Mouctar**

**DIALLO**

**Directeur: Pr Djibril**

**SANGARE**

Ministère des Enseignements Secondaire,

République

du Mali

Supérieur et de la Recherche Scientifique

Un Peuple-Un But-Une Foi



Année Universitaire 2011-2012

**UNIVERSITE DE BAMAKO**

**Faculté de Médecine de pharmacie et d'Odonto-Stomatologie**



Thèse N°/\_/\_/M

## Consortium de MALVECBLOK

RUNMC

CNRS

Imperial  
College

ICIPE

UNIROMA

MRTC

IRD  
OCEAC

### **ETUDE DE L'INFECTIVITE DES GAMETOCYTES DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* CHEZ *ANOPHELES GAMBIAE S.L* ISSUS DE DIFFERENTS TYPES DE GITES LARVAIRES EN ZONE D'ENDEMIE PALUSTRE DE NANGUILABOUGOU**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le.30/01/2012  
Devant la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie  
De l'université de Bamako

*Par Monsieur Alou Guimba Traoré*

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)

**Jury**

Président : Pr Cheick F TRAORE  
Membres : Pr Abdoulaye M TOURE  
Dr Seydou DIARRA  
Co-directeur : Pr Mouctar DIALLO  
Directeur de thèse : Pr Djibril SANGARE



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

**PROFESSEURS HONORAIRES**

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

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

**D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES  
CHIRURGICALES**

**1. PROFESSEURS**

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

## 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

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

## 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Yousouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie - Réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie
Mr Mamadou DIARRA	Ophthalmologie
Mr Boubacary GUINDO	ORL
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA	Chirurgie Générale
Mr Birama TOGOLA	Chirurgie Générale
Mr Adama Konoba KOITA	Chirurgie Générale
Mr Adégné TOGO	Chirurgie Générale
Mr Lassana KANTE	Chirurgie Générale
Mr Mamby KEITA	Chirurgie Pédiatrique

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

#### **4. ASSISTANT**

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

### **D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES**

#### **1. PROFESSEURS**

Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie- Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique

Mr Anatole TOUNKARA  
Mr Bakary M. CISSE  
Mr Abdourahamane S. MAÏGA  
Mr Adama DIARRA  
Mr Mamadou KONE  
Mr Sékou F. TRAORE  
Mr Ibrahim I. MAÏGA

Immunologie  
Biochimie  
Parasitologie  
Physiologie  
Physiologie  
Entomologie médicale  
Bactériologie - Virologie

## 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE  
Mr Flabou BOUGOUDOGO  
Mr Amagana DOLO  
Mr Mahamadou CISSE  
Mr Abdoulaye DABO  
Mr Mahamadou A THERA  
Mr Moussa Issa DIARRA  
Mr Mouctar DIALLO  
Mr Djibril SANGARE  
Mr Boubacar TRAORE  
Mr Mounirou Baby  
Mr Guimogo DOLO  
Mr Kaourou DOUCOURE  
Mr Lassana DOUMBIA  
Mr Abdoulaye TOURE  
Mr Cheick Bougadari TRAORE  
Mr Souleymane DIALLO  
Mr Bouréma KOURIBA

Histologie-Embryologie  
Bactériologie- Virologie  
Parasitologie **Chef de D.E.R**  
Biologie  
Malacologie- Biologie Animale  
Parasitologie - Mycologie  
Biophysique  
Biologie- Parasitologie  
Entomologie Moléculaire Médicale  
Parasitologie- Mycologie  
Hématologie  
Entomologie Moléculaire Médicale  
Biologie  
Chimie Organique  
Entomologie Moléculaire Médicale  
Anatomie-Pathologie  
Bactériologie- Virologie  
Immunologie

## 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DIAKITE  
Mr Bakarou KAMATE  
Mr Bakary MAIGA  
Mr Bokary Y SAMAKE

Immunologie-Génétique  
Anatomie- Pathologie  
Immunologie  
Biochimie

## 4. ASSISTANTS

Mr Mamadou BA  
Mr Moussa FANE  
Mr Blaise DACKOOU  
Mr Aldjouma GUINDO  
Mr Boubacar Ali TOURE  
Mr Issa KONATE  
Mr Moussa KONE

Biologie, Parasitologie Entomologie médicale  
Parasitologie Entomologie  
Chimie Analytique  
Hématologie  
Hématologie  
Chimie-Organique  
Chimie-Organique

Mr Hama Abdoulaye DIALLO	Immunologie
Mr Seydina Aboubacar Samba DIAKITE	Immunologie
Mr Mamadou MAIGA	Bactériologie
Mr Samba Adama SANGARE	Bactériologie
Mr Oumar GUINDO	Biochimie
Mr Seydou Sassou COULIBALY	Biochimie
Mr Harouna BAMBA	Anatomie-Pathologie
Mr Sidi Boula SISSOKO	Histologie-Embryologie
Mr Bréhima DIAKITE	Génétique
Mr Yaya KASSOGUE	Génétique
Mme Safiatou NIARE	Parasitologie
Mr Abdoulaye KONE	Parasitologie
Mr Bamodi SIMAGA	Physiologie
Mr Klétigui Camsir DEMBELE	Biochimie Clinique
Mr Yaya GOITA	Biochimie Clinique

## **D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES**

### **1. PROFESSEURS**

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

### **2. MAÎTRES DE CONFERENCES**

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses



Mme TRAORE Mariam SYLLA  
Mr Daouda K MINTA  
Mr Souleymane DIALLO  
Mr Seydou DIAKITE  
Mr Mahamadou TOURE  
Mr Idrissa A. CISSE  
Mr Mamadou B. DIARRA  
Mr Moussa T. DIARRA  
Mme Habibatou DIAWARA  
Mr Cheick Oumar GUINTO  
Mr Anselme KONATE  
Mr Kassoum SANOGO  
Mr Boubacar TOGO  
Mr Arouna TOGORA  
Mr Souleymane COULIBALY

Pédiatrie  
Maladies Infectieuses  
Pneumologie  
Cardiologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Cardiologie  
Hépto-gastro-entérologie  
Dermatologie  
Neurologie  
Hépto-gastro-entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Psychologie

### **3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mme KAYA Assétou SOUCKO  
Mr Mahamadou GUINDO  
Mr Ousmane FAYE  
Mr Yacouba TOLOBA  
Mme Fatoumata DICKO  
Mr Boubacar DIALLO  
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA  
Mr Modibo SISSOKO  
Mr Ilo Bella DIALL  
Mr Mahamadou DIALLO  
Mr Adama Aguisa DICKO  
Mr Abdoul Aziz DIAKITE  
Mr Boubacar dit Fassara SISSOKO  
Mr Salia COULIBALY  
Mr Ichaka MENTA  
Mr Souleymane COULIBALY  
Mr Japhet Pobanou THERA

Médecine interne  
Radiologie  
Dermatologie  
Pneumo-physiologie  
Pédiatrie  
Médecine Interne  
Neurologie  
Psychiatrie  
Cardiologie  
Radiologie  
Dermatologie  
Pédiatrie  
Pneumologie  
Radiologie  
Cardiologie  
Cardiologie  
Médecine Légale/Ophthalmologie

### **D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

#### **1. PROFESSEURS**

Mr Gaoussou KANOUTE  
Mr Ousmane DOUMBIA  
Mr Elimane MARIKO

Chimie Analytique  
Pharmacie Chimique  
Pharmacologie, Chef de D.E.R

## **2. MAÎTRES DE CONFERENCES**

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

## **3. MAÎTRES ASSISTANTS**

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

## **4. ASSISTANTS**

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

## **D.E.R. SANTE PUBLIQUE**

### **1. PROFESSEUR**

### **2. MAÎTRES DE CONFERENCES**

Mr Mamadou Sounkalo TRAORE	Santé Publique, <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Jean TESTA	Santé publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie

Mr Samba DIOP  
Mr Hamadoun SANGHO  
Mr Adama DIAWARA

Anthropologie Médicale  
Santé Publique  
Santé Publique

### **3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Hammadoun Aly SANGHO  
Mr Akory AG IKNANE  
Mr Ousmane LY  
Mr Cheick Oumar BAGAYOKO  
Mme Fanta SANGHO

Santé Publique  
Santé Publique  
Santé Publique  
Informatique Médicale  
Santé Communautaire

### **4. ASSISTANTS**

Mr Oumar THIÉRO  
Mr Seydou DIARRA  
Mr Abdramane ANNE

Bio statistique  
Anthropologie Médicale  
Bibliothéconomie-Bibliographie

### **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS**

#### **VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA  
Mr Bouba DIARRA  
Mr Zoubéïrou MAIGA  
Mr Boubacar KANTE  
Mr Souleymane GUINDO  
Mme DEMBELE Sira DIARRA  
Mr Modibo DIARRA  
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA  
Mr Mahamadou TRAORE  
Mr Lassine SIDIBE  
Mr Cheick O DIAWARA  
Mr Ousmane MAGASSY

Botanique  
Bactériologie  
Physique  
Galénique  
Gestion  
Mathématiques  
Nutrition  
Hygiène du Milieu  
Génétique  
Chimie-Organique  
Bibliographie  
Bio statistique

#### **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr Babacar FAYE  
Pr Amadou Papa DIOP  
Pr Lamine GAYE  
Pr Pascal BONNABRY

Pharmacodynamie  
Biochimie  
Physiologie  
Pharmacie Hospitalière



## DEDICACES

\*\*\*\*\*

**Je dedie ce travail :**

**A Allah, le Tout Puissant, le Clement, le Miséricordieux**

**A son envoyé le Prophète MOHAMED**, Bénédiction et paix sur lui

**A mon Père, feu GUIMBA**

Très prématurément arraché à notre affection, une chose est de mettre un enfant au monde, l'éduquer en est une autre. Ce travail est l'aboutissement de l'attention toute particulière dont notre éducation a fait objet de votre part depuis l'enfance. Vous restez pour tous tes enfants un modèle.

Qu'Allah vous prends en sainte garde

Amen !

**A ma Mère, feu TRAORE Sitan**

Très prématurément arrachée à notre affection,

Pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon éducation malgré la situation difficile après le décès de papa.

Votre soutien moral et vos encouragements m'ont beaucoup aidé à réussir mes études.

Rassurez-vous d'avoir laissé au monde des descendants dignes de vous et qui seront utiles à l'humanité toute entière. Je suis très fier de vous. Que la terre vous soit légère et que Dieu le Tout Puissant vous accueille dans son paradis !

Amen !

**A ma tante : SACKO Yéréma**, mère de famille exemplaire, tu as été pour moi plus qu'une mère. Tes conseils ne m'ont jamais fait défaut pour me mettre sur la piste de la réussite. Ce travail n'est que le tien. Trouves ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

**A mes frères et sœurs** : ce travail est également le vôtre.

Le soutien social dont j'ai bénéficié de votre part a été d'un appui inestimable pour la réalisation de ce travail. Que Dieu renforce la solidarité au sein de la famille.

Amen !

**A ma fiancée Samaké Assanatou**

Malgré les longues heures de solitude endurées ta patience et tes encouragements ne m'ont jamais faits défaut ; trouves ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

**A mon fils, homonyme de mon père**

Bienvenu dans notre monde où rien n'est facile sans la patience, la combativité, la rigueur et la détermination.

Se sont là les repères de la ligne de conduite de ton grand père, ton cher homonyme. Tu l'imiteras pour enfin aboutir à des fins heureuses dans tes entreprises.

Je te promets protection et amour paternel en toute circonstance.

Tu feras mieux que ce modeste travail.

**A mes grands parents** : TRAORE Moriba et feu BAGAYOKO Nanténin

Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma reconnaissance. Vous n'avez ménagé aucun effort pour ma réussite. Je n'oublierai jamais vos conseils, vos bénédictions, vos privations et surtout vos sacrifices consentis à mon égard. Vous avez su m'inculquer les vertus du travail bien fait, l'amour du prochain et l'humilité.

**A mon collègue** : MARIKO Modibo.

La complémentarité n'a jamais fait défaut.

**A mes amis et aînés académiques** : Dr KASSOGUE Yaya, Dr SISSOKO Makan, Dr KONE Abdoul Karim, Dr TOGO Issa, DIALLO Abdoul Karim, TRAORE Mamary, DIANTE Boubacar, DIARRA Abdoulaye, DIOMBANA Adama et SAMAKE kadiatou.

Votre bonne conduite dans la société m'a beaucoup inspiré, que le Miséricordieux nous gratifie le succès dans toutes nos démarches.

Amen !



## Remerciements

\*\*\*\*\*

A Dieu, Le Tout Puissant,

Le Clément, L'Omniscient, L'Omnipotent,

Le Miséricordieux, Le Tout Miséricordieux

Pour m'avoir guidé, et donné la force et le

courage de réaliser ce modeste travail.



Nous arrivons tous dans ce monde dans les mains des Hommes et nous dépendons des Hommes pendant les premières années de notre vie. Quand nous quittons ce monde, c'est encore les Hommes qui s'occupent de la gestion de notre dépouille mortelle. Nul succès n'est donc possible sans la contribution des Hommes et nul mérite ne peut s'envisager en dehors des opportunités créées par les Hommes. Nous sommes tous, puissants comme faibles, redevables des autres dans nos succès et nous devons faire preuve de gratitude.

#### **Aux chercheurs du MRTC (DEAP)**

Pr. Sékou F. Traoré, Pr. Djibril M. Sangaré, Pr. Mouctar Diallo, Pr Abdoulaye Touré, Pr Amagana Dolo, Dr. Adama Dao, Dr. Alpha Adamou, Dr. Mahamadou Coulibaly, Dr. Guimogo Dolo, Dr. Nafomo Sogoba, Dr. Ibrahima Baber, Oumou Niaré.

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

#### **A mes aînés et amis diplômés de l'ENSUP au laboratoire MRTC**

Alpha Seydou Yaro, Cheick Amadou, Abdallah Diallo, Moussa Keita, Lakamy Sylla, Cheick Oumar Camara.

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

Bonne carrière professionnelle.

#### **A mes aînés de MRTC**

Dr Yaya Kassogué, Dr Madjou Sacko, Dr Massiriba Koné, Dr Bréhima Diallo, Dr Boubacar Guindo, Dr Sibiri Samaké, Dr Modibo B Traoré, Lamine Soumaoro, Dr Bréhima Diakité, Dr Seydou Balam, Dr Bouyé Diallo,

#### **A mes collègues thésards au MRTC**

Kaly Keïta, Adama I Traoré, Seydou Tembiné, Modibo Mariko

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

#### **Aux techniciens du MRTC**

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

Vous avez toujours répondu présent et avec enthousiasme quand j'avais besoin de vous.

Vous m'avez gratifié de tant de respect. C'est le lieu de vous remercier pour tout ce que vous faites pour moi. Je vous souhaite une bonne carrière professionnelle.

#### **A Dr. Richard Sakai**

Cette thèse a été facilitée par votre appui technique et votre bienveillance.

Cher grand-père, je vous remercie pour tout.

**A l'administrateur du MRTC**

Souleymane Karembé. Merci pour tout.

**A tous les informaticiens**

Sidi Somaré, Salimata Traoré, Mady Diarra et Issa Bah.

**A toute l'équipe parasito-clinique et entomologique de Nanguilabougou-Hameau.**

Pr Mouctar Diallo, Dr Modibo Balla Traore, Modibo Mariko.

Merci pour votre fraternité.

**A nos Guides de Nanguilabou-Hameau**

Soungalo Camara, Madou Doumbia, Boubacar Doumbia.

**Aux chauffeurs qui nous ont accompagnés**

Hama Ongoïba, Dramane Dembélé, Fako Koné, Madou Diallo, Moumouni Diallo.

**Aux manœuvres du MRTC (DEAP)**

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

**Aux partenaires de projet MALVECBLK**

CNRS, RUNMC, UNIR OMA, IRD OCEAC, ICIPE, Imperial College.

**A mon équipe de garde à l'hôpital**

Abdoulaye Diarra, Adama Diombana, Ag Rally, Abdoul Karim Doumbia, Souleymane

Daby Sissoko, Hamadoum Kouyaté, Massan Diarrassouba.

**Aux personnels de l'INRSP**

**Aux personnels de centre de santé de Torokorobougou,**

**Aux personnels de Cabinet Médical Nani,**

**Aux personnels de Cabinet Médical Dr Togo,**

**A tout le village de Nanguilabougou-Hameau pour sa collaboration.**

**A tous ceux qui sont victimes de l'injustice ou d'une pathologie invalidante.**

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



## **AUX MEMEBRES DU JURY**

\*\*\*\*\*

### **A notre maître et Président du jury**

#### **Professeur Sékou Fantamady Traoré,**

PhD en entomologie médicale,

Co-directeur du MRTC

Chargé de l'enseignement de biologie cellulaire à la FMPOS.

Vous nous faites un inestimable honneur en acceptant de présider ce jury.

Grâce à vos hautes qualités intellectuelles et sociales, votre rigueur scientifique et votre disponibilité, ce travail a pu voir le jour. Soyez rassuré de notre profond attachement de notre reconnaissance et de notre admiration.

### **A notre maître et juge**

#### **Professeur Abdoulaye M. Touré**

Docteur en Médecine, PhD en parasitologie entomologie médicale,

Consultant, Point Focal des Soins Essentiels dans la Communauté(SEC) pour UNICEF  
Bamako.

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

### **A notre maître et juge**

#### **Dr Seydou Diarra**

Spécialiste en microbiologie,

Chef de service bactériologique de l'INRSP,

Chargé de l'enseignement de microbiologie à l'INFSS.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Vos qualités humaines et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.

**A notre maître et co-directeur de thèse**

**Professeur Mouctar Diallo**

PhD en Parasitologie Entomologie médicale

Responsable de l'Unité de Diagnostic Parasitaire au MRTC/FMPOS

Chef de D.E.R Adjoint au D.E.R des Sciences Fondamentales de la FMPOS

Nous avons apprécié vos qualités scientifiques et pédagogiques tout au long de cette thèse.

Votre rigueur et votre amour pour le travail bien fait ainsi que votre sens critique ont fait de vous un homme apprécié de tous.

Soyez rassuré de notre profond attachement et de notre entière confiance.

**A notre maître et directeur de thèse**

**Professeur Djibril Sangaré**

PhD en parasitologie entomologie médicale, PhD en entomologie moléculaire

Chef de l'unité bio-informatique des vecteurs

Je suis très flatté que vous ayez accepté de m'encadrer.

Vos qualités humaines scientifiques et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré

Vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document

Puisse ce travail exprime toute notre estime, notre profonde gratitude, et notre entière confiance.



## LISTE DES ABREVIATIONS

\*\*\*\*\*

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADNr** : Acide désoxyribonucléique ribosomal

**An** : *Anophèles*

**BCP**: Gélose en Bromocrésol Pourpre

**BK** : Bacille de Koch

**Bp** : Base paire

**Bti** : *Bacillus thurigiensis israelensis*

**cm**: Centimètre

**CTA** : Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine

**° c**: Degré Celsius

**E.coli** : *Escherichia coli*

**Fig**: figure

**FMPOS** : Faculté de Médecine, de Pharmacie et Odonto-Stomatologie

**FODEM** : Fondation-Energie-Monde

**GIS**: Geographical information system

**GA**: *gambiae*

**g/ha**: gramme par hectare

**GTS**: Gélose Trypticase Soja

**Ha**: hectare

**h**: heure

**IG** : indice gamétocytaire

**IGS** : Intergenic spacer

**INRSP** : Institut nationale de recherche en santé publique

**J**: jour

**K. oxytoca** : *Klebsiella oxytoca*

**Km** : kilomètre

**L** : litre

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

**m**: Mètre

**m<sup>2</sup>** : Mètre Carré

**mm<sup>3</sup>** : Mètre cube

**mm:** Millimètre

**MRTC:** Malaria Research and Training Center

**MII :** Moustiquaire imprégnée d'insecticide

**M :** forme Mopti

**µl:** microlitre

**µm:** micromètre

**ml:** Millilitre

**mM :** millimole

**N :** Nombre

**mn :** minute

**ng/ml :** nano gramme par millilitre

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé

**PCR :** Polymérase chaîne réaction

**PH :** potentiel hydrogène

**PNLP :** Programme National de Lutte contre le Paludisme

**% :** Pourcentage

**S :** forme Savane

**s.l:** sens large

**SP:** sulfadoxine-pyriméthamine

**s.s:** sens strict

**Taq :** Tacus aquaticus





## LA LISTE DES TABLEAUX

\*\*\*\*\*

<b><u>Tableau I</u></b> : Examens bactériologiques de l'eau, des larves et des adultes de moustiques des différents gîtes larvaires de Nanguilabougou.....	46
<b><u>Tableau II</u></b> : Variation de la température des gîtes larvaires en degré Celsius (°C) à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	47
<b><u>Tableau III</u></b> : Variation du PH des gîtes larvaires à Nanguilabougou .....	48
<b><u>Tableau IV</u></b> : Répartition de la population d'étude par sexe.....	49
<b><u>Tableau V</u></b> : Indice gamétocytaire des enfants de 4 à 12 ans de Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	50
<b><u>Tableau VI</u></b> : Comparaison des taux d'engorgement des moustiques des différents gîtes et des témoins (Septembre 2010 à Janvier 2011).....	50
<b><u>Tableau VII</u></b> : Comparaison du taux de mortalité des moustiques des différents gîtes et des témoins de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	51
<b><u>Tableau VIII</u></b> : Proportion d' <i>An. Arabiensis</i> et d' <i>An. gambiae s.s</i> en fonction des gîtes larvaires de Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	52
<b><u>Tableau IX</u></b> : Proportion des formes moléculaires M et S en fonction des gîtes larvaires de Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011 après la PCR.....	52
<b><u>Tableau X</u></b> : Comparaison des taux d'infection des moustiques issus des gîtes larvaires à celui des témoins.....	53
<b><u>Tableau XI</u></b> : Comparaison des taux d'infection des moustiques des différents gîtes larvaires.....	53
<b><u>Tableau XII</u></b> : Variations des taux d'infections en oocystes d' <i>An. gambiae s.l</i> par passage après l'infection sur membrane.....	54
<b><u>Tableau XIII</u></b> : Comparaison des taux d'infection des formes moléculaires d' <i>An.gambiae s.s</i> et d' <i>An. arabiensis</i> (Septembre 2010 à Janvier 2011).....	54

<b><u>Tableau XIV</u></b> : Etude de la relation entre l'examen bactériologique et l'infection plasmodiale des carcasses après dissection.....	55
<b><u>Tableau XV</u></b> : Variation de taux d'infection à <i>P. falciparum</i> en fonction de la flore bactérienne, retrouvée dans l'échantillon d'eau, des larves et les adultes des différents gîtes larvaires.....	56
<b><u>Tableau XVI</u></b> : Comparaison des classes de charges oocystiques observée chez <i>An. gambiae s.l.</i> après la dissection de septembre 2010 à janvier 2011.....	56
<b><u>Tableau XVII</u></b> : Moyenne géométrique des charges oocystiques chez <i>An. gambiae s.l.</i> issus des différents gîtes et des témoins.....	57
<b>Tableau XVIII</b> : Composition des réactifs nécessaires pour la mixture à l'identification des espèces et des formes moléculaires d' <i>An. gambiae s.l.</i> .....	69

## LISTE DES FIGURES ET PHOTOS

\*\*\*\*\*

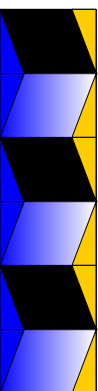
<b><i>Figure 1</i></b> : Cycle biologique du <i>Plasmodium</i> .....	6
<b><i>Figure 2</i></b> : Œufs d’anophèles, d’après Russell <i>et al.</i> 1963.....	8
<b><i>Figure 3</i></b> : Larve d’anophèles, d’après M. Holstein, 1949.....	10
<b><i>Figure 4</i></b> : Nymphe d’Anophèles, d’après Gillies et De Meillon, 1968.....	11
<b><i>Figure 5</i></b> : Adulte femelle d’Anophèles, d’après Holstein, 1949.....	13
<b><i>Figure 6</i></b> : le cycle biologique des anophèles.....	13
<b><i>Figure 7</i></b> : Carte du Mali indiquant le site d’étude.....	27
<b><i>Figure 8</i></b> : Illustration d’ensemencement des germes sur gélose.....	32
<b><i>Figure 9</i></b> : Les différents types gîtes larvaires.....	45
<b><i>Figure 10</i></b> : Variation de la température selon les passages de collecte des larves.....	48
<b><i>Figure 11</i></b> : Répartition de la population d’étude par groupe d’âge.....	49
<b><i>Figure 12</i></b> : Variations des taux d’infections en oocystes d’ <i>An. arabiensis</i> et les formes moléculaires d’ <i>An. gambiae s.l.</i> .....	55
<b><i>Figure 13</i></b> : identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d’agarose.....	71
<b><i>Photo 1</i></b> : Gamétocyte de <i>P. falciparum</i> .....	16
<b><i>Photo 2</i></b> : colonies de germes sur GTS.....	33
<b><i>Photo 3</i></b> : Microscopies des bacilles à gram positif.....	33
<b><i>Photo 4</i></b> : séance de collecte des larves.....	35
<b><i>Photo 5</i></b> : nymphes reparties individuellement dans les tubes Falcon.....	36
<b><i>Photo 6</i></b> : Appareillage de l’infection sur membrane (membrane feeding).....	42
<b><i>Photo 7</i></b> : Moustiques se gorgent de sang à travers la membrane.....	42
<b><i>Photo 8</i></b> : Séance de dissection des moustiques et microscopie des oocystes sur lame.....	44



# SOMMAIRE

\*\*\*\*\*

<b>I- INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>II- OBJECTIFS.....</b>	<b>3</b>
1- Objectif général.....	3
2- Objectifs spécifiques.....	4
<b>III- GENERALITES.....</b>	<b>4</b>
1- Le parasite.....	4
1.1- Systématique.....	4
1.2- Cycle biologique de <i>Plasmodium falciparum</i> .....	4
1.2.1- Cycle chez l'homme.....	4
1.2.1.1- Cycle exo-érythrocytaire.....	4
1.2.1.2- Cycle érythrocytaire.....	5
1.2.2- Cycle chez l'anophèle (cycle sporogonique).....	5
2- Le vecteur.....	7
2.1- Systématique.....	7
2.2- Distribution des vecteurs.....	7
2.3- Cycle biologique de développement d'un <i>Anophelinae</i> .....	8
2.3.1- L'œuf.....	8
2.3.2- La larve.....	9
2.3.3- La nymphe.....	10
2.3.4- L'adulte ou imago.....	11
3- Mécanismes de défense du moustique contre le parasite.....	14
4- Les gamétocytes.....	16
4.1- Définition.....	16
4.2- Origine des gamétocytes.....	16
5- Les bactéries.....	17
6- Infestation expérimentale.....	17
6.1- Définition.....	18



6.2- Infestation directe ou « direct feeding ».....	18
6.3- Infestation sur membrane « membrane feeding ».....	18
6.4- Historique.....	18
6.5- Intérêts.....	19
7- Méthodes de lutte contre le paludisme.....	19
7.1- Lutte contre le parasite.....	19
7.1.1- Traitement des accès palustres simples.....	19
7.1.2- Traitement des accès palustres graves.....	20
7.1.3- Combinaisons thérapeutiques antipaludiques.....	20
7.1.3.1- Définition.....	20
7.1.3.2- Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (CTA).....	20
7.2- Lutte anti-vectorielle.....	21
7.2.1- Lutte anti-larvaire.....	21
7.2.1.1- Lutte biologique.....	22
7.2.1.2- Lutte Physique.....	23
7.2.1.3- Lutte chimique.....	23
7.2.2- Lutte anti-adulte.....	24
7.2.2.1- Moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) et autres supports traités par insecticides.....	24
7.2.2.2- Pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides à effet rémanent.....	24
7.2.2.3- Amélioration de l'habitat humain.....	25
7.2.2.4- Répulsifs.....	25
7.2.2.5- Spirales anti-moustiques.....	25
7.2.2.6- Vêtements protecteurs.....	25
7.2.3- Lutte génétique.....	25
<b>IV- MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>26</b>
1- Lieu d'étude (Nanguilabougou).....	27
1.1- Localisation géographique.....	27
1.2- Population.....	27
1.3- Historique.....	28
1.4- Climat et végétation.....	28
1.5- Reliefs et hydrographies.....	28

1.6- Economie.....	29
1.7- Organisation sociale et administrative.....	29
1.8- Infrastructures.....	30
2- Justification du choix de Nanguilabougou.....	30
3- Type et Période d'étude.....	30
4- Caractérisation des gîtes larvaires <i>d'Anophèles gambiae s.l.</i> .....	30
4.1- Cartographie GPS/GIS.....	30
4.2- Caractérisation environnementale.....	31
4.3- Caractérisation de la flore bactérienne.....	31
4.4- Mesure de la température et du PH des gîtes larvaire.....	34
5- Etude de la Population anophélienne.....	34
5.1- Collecte des larves.....	34
5.2- Suivi des larves à l'insectarium.....	35
5.3- Identification des formes moléculaires (M et S) utilisé comme témoin.....	35
5.4- Elevage de M et S (colonie de laboratoire).....	36
6- Etude de l'infestation expérimentale.....	37
6.1- Sensibilisation de la population.....	37
6.2- Sélection des familles.....	37
6.3- Sélection des porteurs de gamétocytes.....	37
6.4- Convocation des porteurs et transport au laboratoire.....	40
6.5- Sélection des moustiques pour l'infestation.....	40
7- Séance d'infestation expérimentale au laboratoire.....	40
7.1- Critères d'inclusion.....	40
7.2- Critères de non inclusion.....	40
7.3- Elevage et dissection des moustiques issus des séances d'infestation.....	42
8- Identification des carcasses des moustiques après dissection.....	44
9- Saisie et analyse des données.....	44
<b>V- RESULTATS.....</b>	<b>45</b>
1- Caractérisation des différents gîtes larvaires <i>d'An. gambiae s.l.</i> et les porteurs de gamétocyte à Nanguilabougou.....	45
1.1- Caractérisation des différents gîtes larvaires <i>d'An. gambiae s.l.</i> .....	45
1.1.1- Cartographie des différents gîtes larvaires.....	45



1.1.2- Détermination de la flore bactérienne des échantillons des différents gîtes larvaires d' <i>An. gambiae</i> à Nanguilabougou.....	46
1.1.3- Relevés de la température et du PH des gîtes larvaires.....	47
1.2- Caractérisation des porteurs de gamétocytes chez les enfants de 4 à 12 ans.....	48
1.2.1- Caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	49
1.2.2- L'indice gamétocytaire chez les enfants de 4 à 12 ans de Septembre 2010 à Janvier 2011.....	50
2- Etude des taux d'engorgement et des taux de mortalité des moustiques des différents gîtes et des témoins.....	50
2.1- Comparaison des taux d'engorgement des moustiques des différents gîtes et des témoins de laboratoire.....	50
2.2- Comparaison des taux de mortalité des moustiques des différents gîtes et des témoins de laboratoire.....	51
3- Etude de la fréquence d' <i>An. Arabiensis</i> et d' <i>An. gambiae s.s</i> en fonction des gîtes larvaires.....	52
4- Etude des taux d'infection en oocystes d' <i>An. gambiae s.l.</i> des différents gîtes larvaires et de laboratoire.....	53
4.1- Comparaison des taux d'infection d' <i>An gambiae s.l</i> en fonction des gîtes larvaires et la colonie de laboratoire.....	53
4.2- Etude des variations périodique des taux d'infection d' <i>An. gambiae s.l</i> collectés dans les différents gîtes laboratoires et des témoins.....	54
4.3- Comparaison des taux d'infection en oocyste des formes moléculaires d' <i>An gambiae s.s</i> aux taux d'infection d' <i>An. arabiensis</i> à Nanguilabougou.....	54
4.4- Etude des taux d'infection plasmodiale en fonction des populations bactériennes.....	55
5- Comparaison de la charge oocystique des moustiques des gîtes et des témoins de laboratoire.....	56
5.1- Fréquence des charges oocystiques des moustiques issus des gîtes et des témoins....	56
5.2- Comparaison des charges oocystiques des moustiques des gîtes et celles des témoins.....	57

<b>VI- COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>58</b>
1- Caractérisation des différents gîtes larvaires d' <i>An. gambiae s.l.</i> et des porteurs de gamétocytes à Nanguilabougou.....	58
2- Etude des taux d'engorgement et des taux de mortalité des moustiques des moustiques des gîtes et des témoins.....	59
3- Détermination de la fréquence d' <i>An. Arabiensis</i> et d' <i>An. gambiae s.s</i> en fonction des gîtes larvaires.....	60
4- Etude des taux d'infection en oocystes d' <i>An. gambiae s.l.</i> issus des différents gîtes larvaires et de la colonie M de laboratoire.....	61
5- Comparaison de la charge oocystique des moustiques des gîtes et des témoins.....	62
<b>VII- CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....</b>	<b>63</b>
<b>VIII- BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>64</b>
<b>IX- ANNEXES.....</b>	<b>69</b>





## I- INTRODUCTION

Le paludisme ou malaria (mauvais air) est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante, dû à la présence et à la multiplication dans l'organisme humain d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*, transmis par la piqûre infectante de la femelle d'un moustique du genre *Anopheles* (Gentilini, 1993).

Entre 2000 et 2010 des réductions de plus de 50% des cas de paludisme signalés ont été enregistrées dans 43 des 99 pays touchés par la transmission, alors que 8 autres pays ont affiché des tendances à la baisse de 25 à 50%. Les estimations font état de 216 millions d'épisodes palustres en 2010, dont 81% dans la région Afrique de l'OMS, soit 174 millions de cas. Le nombre de décès dus au paludisme est estimé à 655000 pour l'année 2010, dont 91% en Afrique. A l'échelle mondiale, 86% des décès imputables au paludisme ont frappé des enfants de moins de 5ans (OMS, 2011).

Au Mali, comme dans la plupart des pays Africains au Sud du Sahara, le paludisme représente près de 35 % des motifs de consultations, et demeure l'endémie majeure et la première cause de morbidité et de mortalité dans les groupes les plus vulnérables, à savoir les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes (PNLP-Mali, 2010).

Trois des quatre espèces plasmodiales sont présentes au Mali : *P. falciparum*, *P. malariae*, et *P. ovale*. *P. falciparum* est l'espèce la plus dangereuse et est responsable des formes graves et compliquées du paludisme. Un seul cas de *P. vivax* a été décrit dans le nord du Mali chez les populations leucodermes (Koïta, 1988).

En Afrique sub-saharienne les vecteurs du paludisme appartiennent à une douzaine d'espèces avec une compétence vectorielle très variable. *An. gambiae s.l* représente l'espèce la plus répandue et assure la plus grande partie de la transmission du paludisme.

Au Mali les principaux vecteurs sont *An. gambiae s.l* et *Anophèles funestus* (Touré et al.1979). Les études menées par Touré et al. en 1994 et 1998 ont montré qu'au Mali, *An. gambiae s.l* se compose d'*An. arabiensis* et de trois formes chromosomiques d'*An. gambiae s.s* dénommées : Bamako, Mopti et Savane. Avec l'avènement de la biologie moléculaire, Favia et al. , 2001, Fanello et al. , 2002 et Della Torrè et al, 2005 ont décrit deux formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* par l'amplification de l'ADN ribosomal. La forme moléculaire M correspond à la forme chromosomique Mopti et la forme moléculaire S qui regroupe les formes chromosomiques Bamako et Savane.

Plusieurs stratégies ont été avancées à travers le monde dans la lutte contre le paludisme mais sans succès majeur. C'est ainsi qu'en 1998, l'OMS a lancé l'initiative « Roll Back Malaria » (faire reculer le paludisme) dont l'un des quatre éléments fondamentaux repose sur la lutte anti vectorielle.

Le contrôle des vecteurs est l'une des approches efficaces pour diminuer l'incidence du paludisme dans les zones d'endémie (Guérin *et al*, 2002 ; Lengeler *et al*, 2004), mais cette lutte se heurte à des problèmes tel que l'émergence de la résistance des moustiques aux insecticides habituels (Chandre *et al*, 1999 ; Brooke *et al*, 2001).

Face à cette résistance croissante, des nouvelles stratégies de lutte sont envisagées par les chercheurs. L'une de ces approches est de nos jours basée sur la connaissance de la bio-écologie des vecteurs, les gîtes larvaires constituent un élément important de la bio-écologie des vecteurs.

C'est dans ce cadre, que nous avons entrepris dans cette thèse, d'étudier l'infectivité des porteurs des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* chez *Anopheles gambiae s.l* issus des différents gîtes larvaires en zone d'endémie palustre de Nanguilabougou.

De nombreuses études ont montré l'influence de certaines bactéries vivant dans les gîtes larvaires sur le développement du parasite chez les anophèles vecteurs du paludisme. C'est ainsi qu'une étude menée en Afrique par Wonson (1947), dans la région de l'équateur à Coquilhatville, a montré qu'*An. moucheti* n'était pas porteur de sporozoïte sur 1225 femelles disséquées. Ce vecteur reconnu du paludisme dans cette partie de l'Afrique a été cependant trouvé infecter de sporozoïtes de *P. falciparum* dans une forte proportion à Bamanian, un site situé à 15 Km de Coquilhatville (Piron, 1941). Cette différence observée dans la compétence vectorielle d'*An. moucheti* a été attribuée à la présence d'un pigment bleu au niveau des glandes salivaires et de la musculature thoracique des échantillons collectés à Coquilhatville. La flore bactérielle (*P. aeruginosa*) très répandue dans la nature a été mentionnée comme étant à l'origine de ce pigment. Wonson (1947) attribuait à ce pigment une action nocive capable d'inhiber l'évolution des sporozoïtes. Ces observations ont été confirmées à travers des études récentes en Afrique et en Asie (Chris *et al*, 2011). En effet au cours de ces études une action anti plasmodiale causé par différent souches de bactérie chez les différents anophèles vecteurs a été démontrée.

Cependant il serait opportun d'approfondir plusieurs aspects de ces études, étendre l'étude au vecteur majeur (*An .gambiae*), appliquer les moustiques de différents gîtes au sang d'un même porteur des gamétocytes et caractériser les gîtes.

C'est en cela que s'inscrit la présente étude qui se propose de contribuer à la compréhension de l'impact des gîtes sur la sporogonie.



## **II- OBJECTIFS**

### **1- Objectif général**

Etudier l'infectivité des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* chez *Anopheles gambiae s.l* issus des différents gîtes larvaires.

### **2- Objectifs spécifiques**

- Caractériser les différents gîtes larvaires d'*Anopheles gambiae s.l* et les porteurs des gamétocytes,
- Comparer les taux d'engorgement et les taux de mortalité des moustiques des différents gîtes et de la colonie de laboratoire,
- Déterminer la fréquence d'*An. Arabiensis*, d'*An. gambiae s.s* dans les gîtes larvaires sélectionnés,
- Comparer les taux d'infection et les charges oocystiques d'*An gambiae s.s* et *An. Arabiensis* issus des différents gîtes larvaires et des témoins de laboratoire.





### **III- GENERALITES**

La transmission du paludisme est un processus complexe qui requiert la rencontre de trois organismes : le parasite (*Plasmodium*), l'hôte vertébré (Homme) et le moustique vecteur (*Anopheles*). L'interaction entre ces trois éléments est largement influencée par l'environnement avec ses composantes biologiques, physiques, climatiques et humaines.

#### **1-Le parasite**

##### **1.1- Systématique**

Le paludisme est provoqué par un protozoaire parasite du genre *Plasmodium*. Les *Plasmodium* appartiennent au règne *Animal*, au sous règne des *Protozoa*, au phylum des *Apicomplexa* à la classe des *Sporozoa*, à la sous-classe des *Coccidia*, à l'ordre des *Eucoccidiida*, au sous-ordre des *Haemosporiina*, à la famille des *Plasmodiidae*, au genre *Plasmodium*.

Quatre espèces du genre *Plasmodium* sont inféodées à l'homme. Il s'agit de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*, *P. falciparum* est à la fois la plus répandue en Afrique subsaharienne et la seule susceptible de donner des complications mortelles. Aujourd'hui une cinquième espèce est décrite. Il s'agit de *Plasmodium knowlesi* (Bronner, 2009). D'autres *Plasmodium* infectent les animaux tels que *P. berghei* (Rongeurs) ; *P. cynomolgi* (Singe).

##### **1.2- Cycle biologique de *Plasmodium falciparum***

Le cycle biologique du *Plasmodium* se divise en trois phases, deux chez l'hôte humain ou animal: cycle érythrocytaire (dans les cellules sanguines) et cycle exo-érythrocytaire (hors des cellules sanguines) et une chez le moustique (cycle sporogonique).

###### **1.2.1- Cycle chez l'homme**

###### **1.2.1.1- Cycle exo-érythrocytaire**

Au cours d'une piqûre chez l'homme, l'anophèle femelle infesté injecte avec sa salive dans un vaisseau sanguin, des sporozoïtes (éléments fusiformes de 8 à 12 µm de diamètre) localisés dans ses glandes salivaires. Ces sporozoïtes se répartissent rapidement

dans tout l'organisme, pénétrant activement et indifféremment dans différents types cellulaires. Ils atteignent le foie en une demi-heure et pénètrent dans un [hépatocyte](#) : c'est le début d'une crise pré-érythrocytaire hépatique qui va durer 6 jours pour *P. falciparum*, 8 jours pour *P. vivax*, 9 jours pour *P. ovale* et probablement 12 jours pour *P. malariae*.

Seuls les sporozoïtes ayant gagné le foie et franchi une dernière barrière constituée par les cellules de Kupffer, poursuivent leur cycle : c'est la schizogonie tissulaire ou cycle exo-érythrocytaire. Le sporozoïte pénètre dans l'hépatocyte et se transforme en trophozoïte, puis en schizonte. A la maturité, le schizonte hépatique encore appelé corps bleu, s'éclate, libère des mérozoïtes : formes uni-nucléées qui initieront la phase érythrocytaire.

(<http://www.memoireonline.com>)

### 1.2.1.2- Cycle érythrocytaire

Le mérozoïte de provenance tissulaire pénètre dans l'hématie par endocytose et s'y transforme en trophozoïte jeune. Aux dépens de l'hémoglobine dont il se nourrit, le trophozoïte élabore des grains de pigment noir : l'hémozoïne, résidu voisin de l'hématine. Parvenu à maturité il se transforme en schizonte composé d'un certain nombre de mérozoïtes qui se disposent en une forme régulière appelée « corps en rosace », avec le pigment rassemblé au centre du schizonte. Le corps en rosace mûr se dilate puis s'éclate, libère le pigment et les mérozoïtes qui vont parasiter d'autres hématies. L'éclatement quasi simultané des corps en rosace appartenant à la même génération qui provoque l'accès fébrile observé au cours du paludisme. Cet accès fébrile peut être de type :

Tierce : toutes les 48 h, pour *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*. Quarte : toutes les 72 h, pour *P. malariae*.

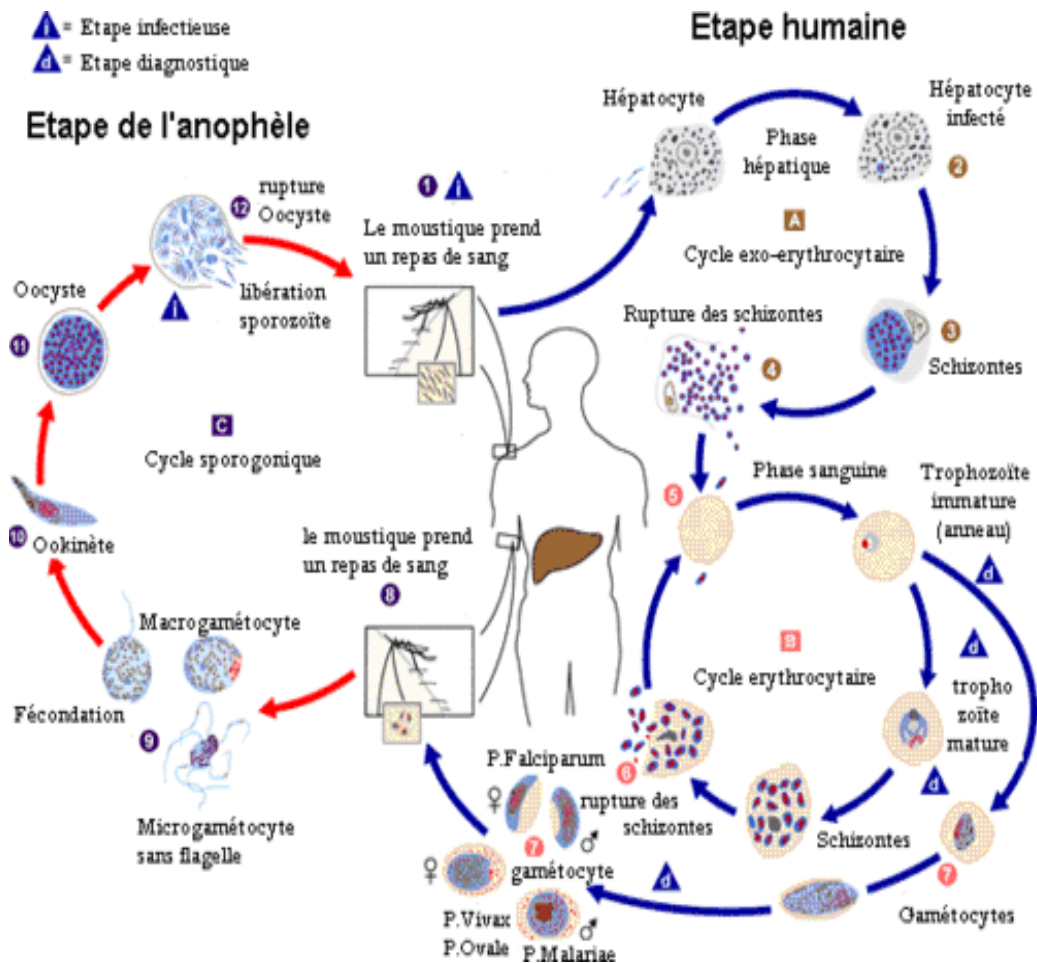
Certains trophozoïtes installés dans les hématies vont subir une évolution particulière. Leur développement va aboutir à la formation de gamétocytes mâles et femelles. Ces gamétocytes dépourvus de tout pouvoir pathogène ne peuvent plus évoluer chez l'homme, ils constituent les éléments sexués qui une fois ingérés par l'anophèle poursuivent leur développement pour devenir des sporozoïtes(<http://www.memoireonline.com>)

### 1.2.2- Cycle chez l'anophèle (cycle sporogonique)

En prenant un repas de sang sur un sujet infesté, l'anophèle femelle absorbe les différents stades du parasite. Les éléments asexués : trophozoïtes et schizontes sont digérés.

Seuls les gamétocytes poursuivent leur développement. Le gamétocyte mâle, parvenu dans l'estomac du moustique, libère 4 à 8 éléments minces, allongés, flexueux, mobiles : c'est le phénomène de l'exflagellation. Ces éléments sont appelés microgamètes. Quant aux gamétocytes femelles, ils subissent une maturation et deviennent des gamètes femelles ou macro gamètes. L'un des microgamètes pénètre dans le macrogamète ; les deux noyaux fusionnent, il y a fécondation et formation d'un œuf mobile appelé ookinète. Cet ookinète, grâce à sa mobilité va s'enfoncer dans la paroi de l'estomac du moustique pour finalement s'immobiliser entre l'épithélium et la couche musculaire. Il devient un oocyste qui va grossir pour atteindre et même dépasser 60 µm de diamètre. Le noyau de l'oocyste se divise plusieurs fois, les divisions cytoplasmiques suivent. Il se forme ainsi à l'intérieur de l'oocyste des milliers d'éléments, qui d'abord arrondis, vont devenir fusiformes, allongés: les sporozoïtes. Parvenu à maturité, l'oocyste éclate et libère les sporozoïtes qui vont envahir les glandes salivaires du moustique. L'anophèle devenu infectante infectera un nouvel individu lors d'un repas de sang.

La durée du cycle sporogonique est en moyenne de 10 à 40 jours, en fonction de la température, de l'humidité de l'air, de l'espèce plasmodiale hébergée par l'anophèle. D'une façon générale *P. falciparum* et *P. vivax* évoluent plus rapidement que *P. ovale* et *P. malariae* surtout. Le cycle sporogonique n'est possible qu'au-dessus d'une certaine température: 17° C pour *P. vivax* et *P. malariae*.



**Figure 1 :** Cycle biologique du *Plasmodium* (Source: [http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod\\_Malaria\\_Cycle\\_fr.html](http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod_Malaria_Cycle_fr.html))

## 2- Le vecteur

### 2.1- Systématique

Tous les *Plasmodium* de primates, dont les 4 espèces parasites de l'homme sont transmises par des moustiques du genre *Anopheles* (étymologiquement, du grec « a » privatif et « Opheles » utile, autrement dit insecte dénué d'utilité).

Les anophèles appartiennent au phylum des Arthropodes, à la classe des Insectes, à l'ordre des Diptères, au sous-ordre des Nématocères, à la famille des *Culicidae* à la sous famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles* (Mouchet et al, 1991, Rodhain et al 1985).

Le genre *Anopheles* comprend environ 400 espèces dont une soixantaine seulement est vectrice de *Plasmodium* dans les conditions naturelles. Vingt espèces sont à l'origine de la plupart des cas humains. (Mouchet et al, 1991, Rodhain et al 1985).

### 2.2- Distribution des vecteurs

Pour des raisons encore inconnues, le paludisme humain est transmis par les anophèles. A cet effet, l'épidémiologie du paludisme humain suit la distribution spatiale des anophèles vecteurs. Le paludisme sévit actuellement dans les zones tropicales et intertropicales, à l'état endémique.

**Afrique :** le paludisme est largement répandu dans toute l'Afrique intertropicale et à Madagascar ; par contre il est rare en Afrique du Nord. Dans les régions de sud du Sahara les vecteurs prédominants sont *An. gambiae s.l* et *An. funestus*.

Le complexe *An. gambiae s.l.* comprend sept espèces : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. quadriannulatus* (A et B) et *An. bwambae*. Ces espèces sont morphologiquement identiques, mais présentent des barrières de reproduction et des préférences écologiques distinctes.

**Amérique :** le paludisme est présent en Amérique Centrale, en Amérique du Sud où il est en progression, en particulier au Brésil, dans les Guyanes et en Haïti. Par contre aux Antilles françaises et en Amérique du Nord, il est absent.

**Asie :** il sévit intensément en Asie mineure, dans la péninsule indienne, en Birmanie, en Chine, en Thaïlande et au Vietnam.

**Océanie :** il est présent en Nouvelle Guinée, aux îles Salomon. Il est absent en Tahiti, en Nouvelle Calédonie et aux îles Loyauté. Les foyers du Nord-est de l'Australie ont disparu.

**Europe :** le paludisme a été éradiqué et a disparu de ses anciens foyers. Mais on observe le paludisme d'importation, surtout en France, qui est en pleine augmentation du fait de l'essor des déplacements vers les pays tropicaux.

### **2.3- Cycle biologique de développement d'un *Anophelinae***

Le développement des moustiques est caractérisé par la succession de deux phases :

- la première est aquatique; elle recouvre la vie pré-imaginale, c'est-à-dire l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe;
- la seconde est aérienne, elle concerne l'adulte ou imago.

#### **2.3.1- L'œuf**

Le lieu de ponte varie en fonction des espèces, généralement les gîtes les plus utilisés sont les rizières, lacs, rivières et plus habituellement les flaques d'eaux.

Les anophèles femelles pondent à la surface de l'eau des œufs fécondés (100 à 150 œufs qui sont déposés au cours d'une ponte). Ces œufs, pondus isolément, sont munis de flotteurs

latéraux remplis d'air et restent en surface durant l'embryogenèse. Il mesure environ 0.5 mm de long. Sa forme évoque celle d'un cylindre incurvé aux extrémités.

L'œuf comprend de l'intérieur vers l'extérieur : l'embryon, la membrane vitelline pellucide, un endo-chorion épais, un exo-chorion plus ou moins pigmenté et ornementé (*Monnerat et al*, 1999).

Les œufs d'anophèles, contrairement à ceux d'autres moustiques, résistent très mal à la dessiccation.

Flotteurs

Marge claire

***Figure 2:*** Œufs d'*Anophèles*, d'après Russell *et al.* 1963

### **2.3.2- La larve**

D'un œuf éclot une larve du premier stade (L1). La larve aquatique se nourrit en filtrant les débris organiques et les micro-organismes de l'eau de surface, s'accroît et mue trois fois. La larve de quatrième stade (L4) effectue une mue particulière, la nymphose qui libère une nymphe aquatique mobile, qui ne se nourrit pas.

Elle mesure environ 1 mm de long au premier stade et 5 mm au quatrième chez *An. gambiae*.

La larve se compose de trois parties: la tête, le thorax et l'abdomen.

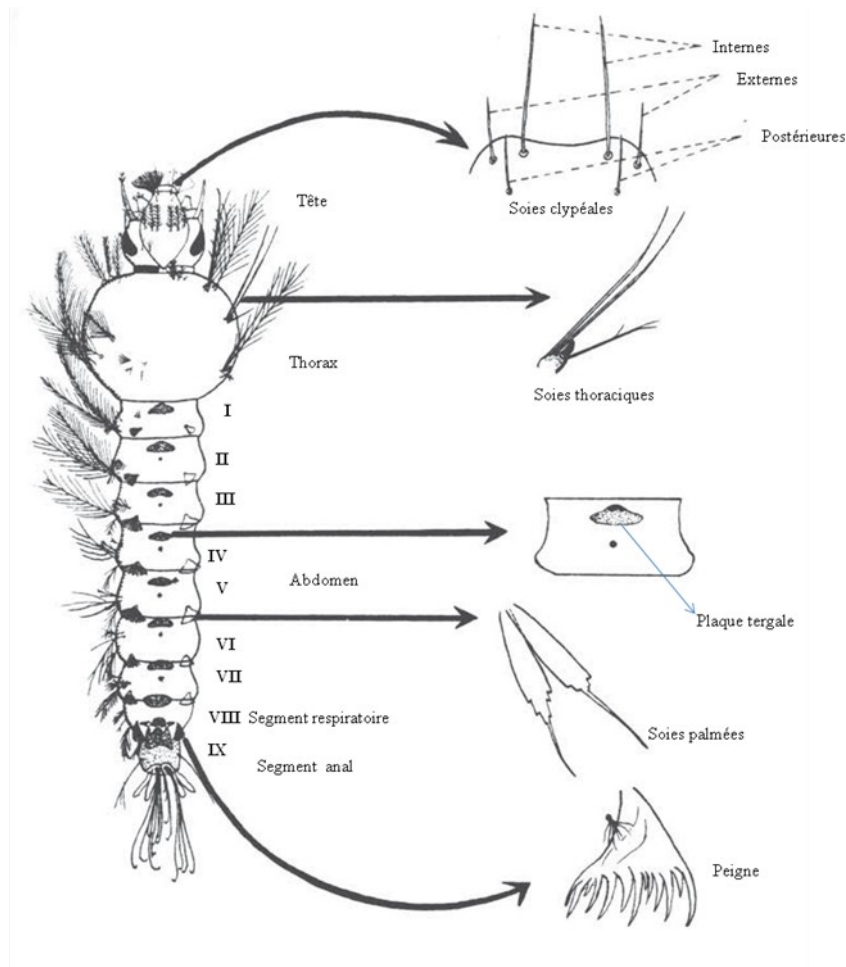
- La tête comprend notamment les yeux, les antennes, les soies fronto-clypéales très utilisées pour la diagnose spécifique et les pièces buccales (labre, mandibules, maxilles, hypo-pharynx, labium) en position ventrale, qui entourent la bouche.

Pour se nourrir, la larve dont la face dorsale est placée sous la surface de l'eau, effectue une rotation de 180° de la tête qui est bien séparée du thorax par un cou membraneux; elle filtre et ingère les particules alimentaires amenées vers la bouche par le courant de surface engendré par le battement des brosses buccales du labre.

- Le thorax est formé de trois segments non individualisés. Il porte des soies particulières très utilisées en taxonomie.

- L'abdomen cylindrique se compose de neuf segments. Les sept premiers portent notamment des plaques sclérifiées dorsales et des soies palmées caractéristiques des *Anophèles*, qui contribuent au maintien de la larve juste à la surface de l'eau.

Le huitième segment abdominal porte latéralement une paire de plaques chitineuses particulières, les peignes, et dorsalement deux orifices respiratoires, les stigmates, s'ouvrant directement au niveau d'une plaque spinaculaire ; l'absence de siphon respiratoire est une caractéristique des *Anophelinae*, de sorte que la larve reste parallèle à la surface de l'eau, face dorsale vers le haut. Les stigmates respiratoires sont fermés par des valves lors de la plongée et ouverts en surface pour autoriser le renouvellement de l'air du système trachéen. La respiration est aérienne. Le dernier segment abdominal porte l'anus, entouré de deux paires de papilles anales. Il porte aussi une plaque sclérifiée, la selle, et un certain nombre de soies utilisées en taxonomie.



**Figure 3** : Larve d’anophèle, d’après M. Holstein, 1949

### 2.3.3- La nymphe

La nymphe se présentant sous forme de virgule ou de puppe qui ne se nourrit pas. Les organes propres au stade larvaire (appareil buccal filtreur-broyeur, système digestif de détritophage-filtreur) sont remplacés par ceux propres à l’adulte qui étaient présents à l’état d’ébauches dans la larve (ailes, pattes, appareil buccal piqueur-suceur, système digestif d’hématophage) apparaissent.

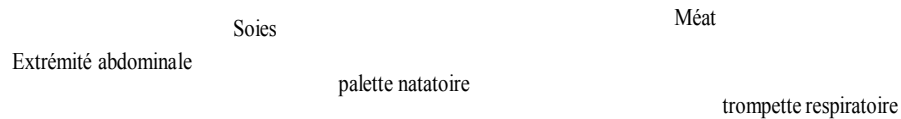
Elle est composée de deux parties : le céphalothorax résultant de la coalescence d’une tête non individualisée et d’un thorax globuleux et l’abdomen.

-Le céphalothorax porte deux trompettes respiratoires qui correspondent aux stigmates antérieurs du thorax. Ces trompettes à extrémités hydrophobes traversent la surface de l’eau et assurent la respiration aérienne de la nymphe.

-L’abdomen comprend huit segments bien visibles dont le huitième porte une paire de palettes natatoires permettant des mouvements brusques et saccadés. Le stade nymphal dure



habituellement deux jours. De la nymphe émerge un adulte, mâle ou femelle, qui s'envole sans tarder.



***Figure 4*** : Nymphe d'anophèle, d'après Gillies et De Meillon, 1968

#### **2.3.4- L'adulte ou imago**

La ligne ecdysiale du céphalothorax de la nymphe âgée se fracture et libère successivement les différentes parties de l'adulte: thorax, tête, antennes, ailes, trompe, pattes, abdomen. L'adulte se retrouve à l'air libre posé sur son exuvie nymphale. Il reste quelques instants immobile, le temps que ses ailes se déploient et que la cuticule durcisse, puis s'envole. L'émergence dure quelques minutes et représente une phase délicate dans la vie de l'insecte où se manifeste une forte mortalité.

L'adulte comprend trois parties bien distinctes: la tête, le thorax et l'abdomen.

- La tête porte deux gros yeux composés, une paire d'antennes de quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle.

La trompe ou proboscis est formée postérieurement du labium replié en gouttière entourant six fins stylets, vulnérants chez la femelle, soit:

- une paire de mandibules ;
- une paire de maxilles qui sont les organes perforants principaux ;
- l'hypo-pharynx traversé par le canal salivaire où est injecté la salive anticoagulante (éventuellement les sporozoïtes) ;
- le labre qui forme, avec l'hypo-pharynx comme « plancher », le canal alimentaire où sont aspirés les liquides nutritifs (et éventuellement les gamétocytes).

Les deux palpes maxillaires situés de part et d'autre de la trompe sont formés de quatre articles. Chez la femelle, ils sont de la taille de la trompe; ils sont plus longs chez le mâle et ont les deux articles distaux renflés en massue.

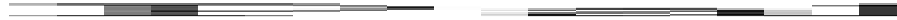
- Le thorax est formé de trois métamères portant chacun une paire de pattes. Le prothorax est très réduit. C'est sur le mésothorax très développé et renfermant de puissants muscles alaires que s'insère une paire d'ailes. Sur le métathorax est placée une paire d'haltères ou balanciers qui sont l'homologue d'une paire d'ailes postérieures atrophiées et qui joue un rôle dans l'équilibration du vol. Le thorax est composé de plaques chitineuses (tergites dorsaux, pleurites latéraux, sternites latéraux) à nomenclature et chétotaxie bien définies, utilisées en taxonomie.

Les pattes longues et graciles sont formées de neuf articles : la hanche ou coxa, le trochanter, le fémur, le tibia, le tarse formé de cinq articles dont le dernier porte une paire de griffes enserrant deux pulvilles et une soie médiane appelée empodium. Les ailes des *Anophelinae* présentent de nombreuses écailles claires et sombres dont l'arrangement, sur le rebord costal et sur les « cellules » délimitées par les nervures alaires, est très utilisé en systématique.

- L'abdomen est constitué de dix segments dont sept sont bien visibles. Chaque segment est constitué d'une plaque chitineuse dorsale (le tergite) et d'une ventrale (le sternite) reliés par une membrane qui autorise la dilatation de l'abdomen lors de l'alimentation sanguine et de la maturation des ovaires. Les trois derniers segments portent l'anus et les appendices génitaux ou *genitalias*.

Chez la femelle, ces dernières sont simples. Le neuvième segment porte deux cerques dorsaux. Le vagin est ventral et fermé par deux lèvres.

Chez le mâle, peu après la mue imaginale, les trois derniers segments subissent une rotation définitive de 180°. Les neuvième et dixième segments constituent l'hypo-pygium qui se compose d'une paire de forcipules articulés, d'une paire de gonapophyses ou harpagones à la base de ces dernières et d'un pénis médian. La forme et la chétotaxie de l'hypo-pygium sont des caractères spécifiques.



***Figure 5*** : Adulte femelle d'*Anophèles*, d'après Holstein, 1949

**Figure 6** : le cycle biologique des anophèles

### **3- Mécanismes de défense du moustique contre le parasite**

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

Ces mécanismes de résistances peuvent limiter le développement du parasite et donc la transmission de la maladie. Parmi ces mécanismes nous avons :

**-La réduction du nombre de parasite** : au cours de son développement sporogonique chez le moustique, le parasite franchit successivement deux barrières : la matrice péritrophique et l'épithélium intestinal.

#### **La matrice péritrophique (MP)**

La majorité des moustiques produisent une sorte d'enveloppe, de structure lamellaire, enserrant le bol alimentaire. Un stimulus de cette sécrétion serait la distension stomacale, mais il doit être associé à la présence de composés sanguins puisque l'absorption de sérum ou de jus sucré n'entraîne pas la formation de MP (Billingsley et al,

1992, Richards et *al*, 1977). Elle est sécrétée par les cellules de l'épithélium stomacal et entoure tout le bol alimentaire en quelques heures. La nature chimique et la cinétique de sécrétion de la MP dépendent de l'espèce du moustique. On comprend qu'il faille au parasite un équipement enzymatique spécifique pour passer cette première barrière physiologique quand la mise en place de la MP est précoce.

De plus, dans la lumière intestinale se produit une forte réduction parasitaire de telle sorte que, dans les conditions naturelles de transmission, seule une dizaine d'oocystes arrive à maturité. Les réactions de défense du moustique pourraient contribuer à cette réduction parasitaire.

#### **- L'encapsulation mélanique dans l'hémolymphe**

C'est le premier mécanisme de résistance du moustique au *Plasmodium* à avoir été réellement caractérisé du point de vue génétique et physiologique. Cette résistance se manifeste par la production d'une capsule de mélanine autour des ookinètes du parasite lorsque ceux-ci émergent sur la face basale des cellules épithéliales de l'estomac de l'insecte entre 16 et 24 heures après le repas sanguin (Collins et *al*. 1986). Les hémocytes du moustique ne sont pas impliqués dans le processus d'encapsulation, indiquant que le mécanisme est de type humoral (Paskewitz et al 1988).

#### **- La lyse intracellulaire des ookinètes dans l'épithélium de l'estomac**

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

#### **- Les enzymes de la digestion**

L'ingestion d'un repas sanguin déclenche chez le moustique une sécrétion enzymatique protéolytique abondante (Billingsley et *al*, 1991). L'activité enzymatique digestive atteint son apogée à des moments variables après l'ingestion du repas sanguin qui dépendent de l'espèce de moustique en cause. Ces enzymes digestives peuvent détruire le

parasite. L'ookinète semble plus résistant aux enzymes que les stades précédents (Gass, 1977., Gass et *al*, 1979., Kumar et *al*, 1985., Yeates et *al*, 1981). Il doit probablement mettre en jeu des mécanismes de protection qui sont encore inconnus. Le développement de l'ookinète, contemporain du pic de sécrétion enzymatique ou de la formation d'une matrice péritrophique étanche, doit vraisemblablement avorter ou être fortement inhibé. Inversement, un développement de l'ookinète avant le pic de sécrétion enzymatique ou avant la formation complète de la matrice péritrophique permet l'évolution du parasite vers les stades ultérieurs. Le rôle des enzymes digestifs du moustique peut ainsi être facilitateur ou inhibiteur de l'infectivité du parasite selon la période du développement sporogonique à laquelle ils sont sécrétés et selon le rôle concomitant de la matrice péritrophique. Un autre rôle serait dévolu aux enzymes digestives.

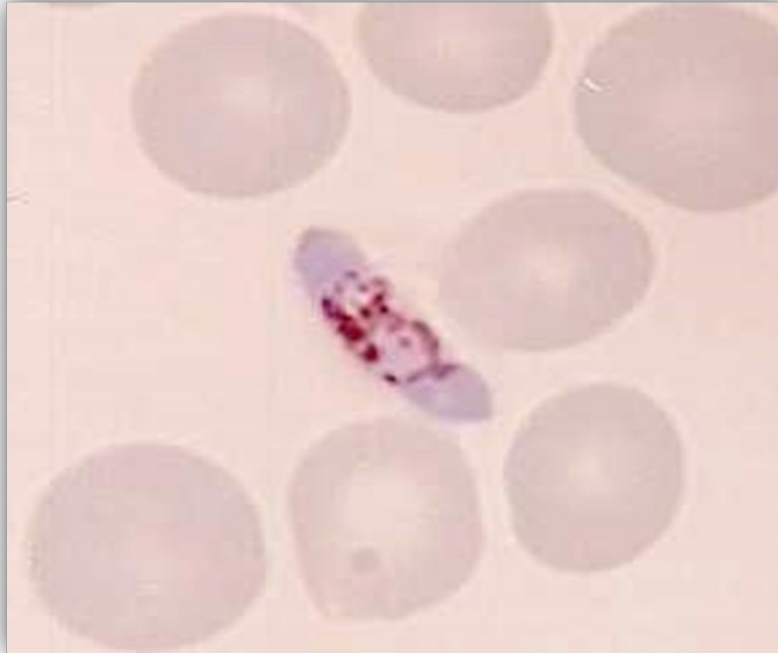
Elles activeraient la prochitinase sécrétée par l'ookinète sous forme inactive, au moins chez *Plasmodium. gallinaceum* (Huber et *al*, 1991 ; Shahabuddin et *al*, 1996 ; Shahabuddin et *al*, 1993), favorisant ainsi la traversée de la matrice péritrophique. Mais un tel mécanisme a été récemment mis en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

#### **4- Les gamétocytes**

##### **4.1- Définition**

Les gamétocytes sont des stades sexués érythrocytaires du *Plasmodium* qui peuvent apparaître dans la circulation sanguine au cours d'une infection paludique. Le terme gamétocyte désigne des pré-gamètes.

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



***Photo 1:*** Gamétoocyte de *P. falciparum* (Source : ANOFEL-service de parasitologie-Mycologie, CHU de Grenoble).

#### **4.2- Origine des gamétoocytes**

Élément provenant de certains corpuscules (mérozoïtes) issus eux-mêmes de la division dans les globules rouges du parasite agent du paludisme (Plasmodium). Le nombre de gamétoocytes est ordinairement très inférieur à celui des stades asexués, de l'ordre de 1 à 3 gamétoocytes pour 100 trophozoïtes. Les gamétoocytes se répandent dans le sang par l'éclatement des globules rouges infestés.

#### **5- Les bactéries**

Les bactéries sont des cellules procaryotes (sans noyau).

##### **❖ Structure :**

**Eléments permanents :** paroi, membrane cytoplasmique, cytoplasme, chromosomes, ribosomes, inclusions.

**Eléments inconstants :** capsule, pilis sexuels, pilis communs, flagelle.

##### **❖ Classification des bactéries**

✓ **Selon leur forme :**

**Cocci** : on distingue des cocci en amas (staphylocoques), en diplocoques (pneumocoque, méningocoque) et en chaînettes (streptocoques).

**Bacilles** : entérobactéries (*Klebsiella*, *E.coli* ), corynébactéries ( *C. diphthérie* ).

**Formes spiralées** : spirochètes (tréponème), autres (mycoplasme, chloxydiae, mycobactérie, rickettsie).

✓ **Selon la coloration au laboratoire**

Les bactéries à Gram + se colorent en violet, tandis que les bactéries à Gram - se colorent en rose et la coloration de Ziehl-Neelsen est utilisée pour rechercher BK.

✓ **Selon le mode de respiration**

On distingue des bactéries aérobies strictes (méningocoques), des bactéries aéro-anaérobies facultatives (salmonelles) et des bactéries anaérobies strictes (BK)

**Conditions de vie** : les nutriments passent à travers la membrane grâce à des protéines.

**Reproduction** : elle se fait par scissiparité, une cellule donne 2 identiques. La vitesse de reproduction dépend du milieu et des espèces de bactéries.

**Conditions optimales** : T° à 37°, humidité, richesse du milieu nutritif et le pH (selon espèce).

**Conditions défavorables** : manque d'eau, épuisement du milieu, température désagréable, dans ces conditions il y a transformation en spore (la spore ne se multiplie pas, elle a une vie très ralentie jusqu'à ce qu'il se retrouve dans un milieu favorable pour transformation).

Par contre la spore se transforme en bactérie par germination.

Sous forme de spore la résistance aux antibiotiques est plus forte, ainsi qu'aux antiseptiques, aux ultraviolets, au vieillissement et aux températures élevées.

❖ **Pouvoir pathogène** : une bactérie peut devenir à tout moment pathogène même les bactéries commensales. Le pouvoir pathogène est défini par :

- capacité à proliférer dans l'organisme (virulence)
- capacité à sécréter des toxines (responsables d'une pathologie pouvant être mortelle).
- résistance opposée par l'organisme (personnes âgées, malade immunodéprimé).

## **6- Infestation expérimentale**

### **6.1- Définition**

C'est une méthode d'infection provoquée des moustiques



Les moustiques utilisés en infestation expérimentale ne sont pas infectés car ils proviennent de larves élevées en laboratoire.

La technique consiste à faire gorger des femelles n'ayant jamais pris le repas de sang antérieurement avec du sang d'un sujet porteur de gamétocytes.

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

### **6.2- Infestation directe ou « direct feeding »**

Les moustiques contenus dans un pot sont directement gorgés sur les jambes (mollet) ou sur les cuisses du porteur de gamétocytes pendant 20 mn.

### **6.3- Infestation sur membrane « membrane feeding »**

Les moustiques sont gorgés sur du sang à travers la membrane (para film) d'un dispositif appelé « feeder » pendant 20 mn.

### **6.4- Historique**

En 1957, Muirhead-Thomson a publié les premières études qui ont permis de déterminer dans des zones de paludisme la proportion de personnes qui sont infectieuses pour les moustiques. Ainsi, il trouva dans un village de l'Afrique de l'Ouest que 10-11% des individus étaient infectieux pour les moustiques. Les méthodes d'infestation directe et sur membrane ont été utilisées pour l'évaluation de l'immunité de blocage de la transmission du paludisme en cherchant les facteurs influents.

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

Les méthodes d'infestation directe et sur membrane ont été utilisées pour l'évaluation de l'immunité de blocage de la transmission du paludisme en cherchant les facteurs influents (Mulder et *al.*, 1993).

### **6.5- Intérêts**

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

## 7- Méthodes de lutte contre le paludisme

Deux méthodes peuvent être mises en œuvre pour lutter contre le paludisme, l'une visant à détruire l'agent pathogène, l'autre orientée contre le vecteur.

### 7.1- Lutte contre le parasite

Elle repose sur l'utilisation des substances antipaludiques (schizonticides et gamétocides) qui sont actives sur les différents stades sanguins du parasite. Elle vise soit à éliminer les parasites déjà présents chez un hôte (chimiothérapie), ou bien à prévenir l'installation et le développement du parasite chez l'homme (chimio prophylaxie).

Les parasites résistent de plus en plus aux médicaments antipaludiques les plus usuels.

Un consensus s'est dégagé récemment pour privilégier des associations à base d'artémisinine. L'association de deux médicaments est l'un des moyens pour limiter l'apparition des pharmaco résistances car le risque d'apparition simultanée d'une résistance à deux produits différents est très faible. De plus, les nouvelles combinaisons médicamenteuses parviennent à éliminer le parasite et permettent aux paludéens de récupérer beaucoup plus rapidement.

#### 7.1.1- Traitement des accès palustres simples

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

- **Les schizonticides** : utilisés pour les stades sanguins du *Plasmodium* sont recommandés pour le traitement aussi bien symptomatique qu'asymptomatique. En fonction de leur composition chimique, on distingue: les aminoalcools (quinine, méfloquine, halofantrine, luméfántrine), les sesquiterpènes (artémisinine), les antimétabolites antifoliques (sulfadoxine et sulfone) et les antimétabolites antifoliniques (proguanil et pyrémathamine).
- **Les gamétocides** : détruisent les formes sexuées du *Plasmodium*; ils ont la possibilité d'agir aussi bien sur les formes sexuées portées par l'homme mais également sur celles qui sont ingérées par les Anophèles lors du repas sanguin. Ce type de molécule a donc un effet

sur la transmission du paludisme. Généralement nous retrouvons dans cette catégorie les Amino-8-quinoléines : primaquine, tafénoquine.

### **7.1.2- Traitement des accès palustres graves**

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

### **7.1.3- Combinaisons thérapeutiques antipaludiques**

Pour faire face au risque d'une résistance de *P. falciparum* aux monothérapies et pour améliorer l'issue du traitement, les combinaisons thérapeutiques antipaludiques sont désormais recommandées par l'OMS pour le traitement des cas de paludisme simple à *P. falciparum* (OMS ; 2006).

#### **7.1.3.1- Définition**

Les combinaisons thérapeutiques antipaludiques consistent à utiliser simultanément deux ou plusieurs schizonticides sanguins ayant des modes d'action indépendants et donc des cibles biochimiques différentes chez l'hématozoaire.

Le concept est basé sur le potentiel qu'ont deux ou plusieurs schizonticides administrés simultanément et ayant des modes d'action indépendants d'améliorer l'efficacité thérapeutique et aussi de retarder l'apparition d'une résistance contre chacun des médicaments de l'association.

#### **7.1.3.2- Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (CTA)**

L'artémisinine et ses dérivés (artésunate, artéméther, artémotil, dihydroartémisinine) entraînent une clearance parasitaire rapide et une disparition rapide des symptômes. Ils réduisent le nombre d'hématozoaires d'un facteur de près de 10 000 lors de chaque cycle asexué, ce qui est plus que les autres antipaludiques courants (qui le réduisent d'un facteur de 100 à 1000 par cycle). Lorsqu'ils sont administrés en association avec des produits rapidement éliminés (tétracyclines, clindamycine), un traitement de 7 jours est nécessaire ; mais lorsqu'ils sont associés à des antipaludiques à élimination lente, des durées de traitement plus courtes (3 jours) sont efficaces. Leur supériorité par rapport aux monothérapies a été clairement documentée (OMS ; 2006).

Dans les schémas thérapeutiques avec une prescription de CTA pendant 3 jours, le composé d'artémisinine n'est présent dans l'organisme que durant deux cycles asexués de l'hématozoaire. Cette exposition à 3 jours de traitement par l'artémisinine réduit le nombre de plasmodies présentes dans l'organisme d'un facteur approximativement égal à 100 millions ( $10^4 \times 10^4 = 10^8$ ). Toutefois, l'élimination complète des plasmodies repose sur l'efficacité du médicament associé, qui doit persister à des concentrations parasitocides jusqu'à ce que tous les hématozoaires infestants aient été tués. Ainsi, celui-ci doit être éliminé relativement lentement. Le résultat est que le composé d'artémisinine est « protégé » de la résistance par le médicament qui l'accompagne pour autant que ce dernier soit efficace, et ce médicament d'accompagnement est lui-même partiellement protégé par le dérivé de l'artémisinine. Les schémas thérapeutiques de CTA d'un ou deux jours ne sont pas recommandés ; ils sont moins efficaces et confèrent une protection moindre à l'antipaludique s'éliminant lentement.

Les composés de l'artémisinine sont actifs contre les quatre espèces d'hématozoaires qui infestent l'homme et sont en général bien tolérés. Les seuls effets indésirables importants qui soient apparus à la suite de larges essais cliniques ont été de rares réactions d'hypersensibilité de type 1 se manifestant au début par une urticaire (environ 1 pour 3000).

Du point de vue de la santé publique, ces médicaments présentent également l'avantage de réduire le portage des gamétocytes et donc la transmission du paludisme, ce qui contribue à la lutte antipaludique dans les zones de faible endémicité (OMS ; 2006).

## **7.2- Lutte anti-vectorielle**

La lutte antivectorielle est historiquement la première méthode de prévention du paludisme. Elle repose sur la réduction de la mortalité et la morbidité paludéenne par l'abaissement des taux de transmission.

La lutte anti vectorielle repose sur trois approches fondamentales (OMS, 1991 et OMS, 1995).

### **7.2.1- Lutte anti-larvaire**

Elle réduit les densités de population pré-imaginales et, donc, les densités d'adultes. Elle ne peut être réalisée que si les gîtes sont facilement accessibles et en nombre limité. Il est plus utile dans les zones à population humaine dense avec peu de gîtes ; dans les climats

arides ; pendant les périodes de sécheresse dans les zones endémiques quand les gîtes sont bien délimités, définis et traitables ; dans les camps de réfugiés, dans les zones à risque de paludisme et à faible pluviométrie (OMS, 2003).

### 7.2.1.1- Lutte biologique

La lutte biologique contre les moustiques consiste à introduire dans leurs biotopes des espèces qui sont leurs ennemis naturels, par exemple des parasites, des microorganismes pathogènes ou des prédateurs. Il peut s'agir d'insectes, de virus, de bactéries, de protozoaires, de champignons, de végétaux divers, de nématodes ou de poissons.

Pour pouvoir utiliser ces agents biologiques de manière efficace, il faut une bonne connaissance de la biologie et du comportement des insectes à combattre ainsi que des conditions locales (OMS, 1999).

Un certain nombre d'organismes se sont révélés efficaces contre les larves de moustiques. Les plus importants sont:

- **les poissons larvivores** se nourrissent des larves de moustiques. Les principales espèces sont : *Gambusia affinis* est plus efficace dans les eaux claires *Poecilia reticulata* est utilisé avec succès dans les eaux polluées de matières organiques. Cette espèce supporte des températures élevées que *Gambusia* et convient mieux donc dans les rizières des pays chauds (OMS, 2003).
- **bactéries Larvicides** produisent des toxines qui tuent les larves après ingestion. La bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) est plus efficace dans l'eau propre, ne représente aucun danger pour les autres insectes, poissons, hommes et animaux supérieurs aux doses normales et suivant la formulation employée, son désavantage est que sa densité l'entraîne au fond du gîte alors que les larves d'anophèles se nourrissent en surface. *Bacillus sphaericus* produit une toxine dont les effets sont semblables à celui du Bti mais plus efficace dans les eaux polluées (OMS, 2003).
- **les moustiques prédateurs** du genre *Toxorhynchites* dont les larves se nourrissent de larves d'autres moustiques ;

- **les libellules** dont les larves se nourrissent de larves de moustiques ;
- **les copépodes cyclopoïdes** : petits crustacés qui s'attaquent aux larves de moustiques du premier et du deuxième stade ;
- **les nématodes** qui parasitent les larves des moustiques ;
- **les champignons** qui se développent dans l'organisme des larves de moustiques ;

De tous ces agents, seuls deux sont utilisés : les poissons larvivores et les larvicides bactériens (OMS, 1999).

### 7.2.1.2- Lutte Physique

C'est une modification intentionnelle du biotope visant à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent. On distingue :

- **Le drainage**

Il consiste à faire évacuer les eaux du gîte à l'aide d'un drain vers un milieu naturel. Le drainage a l'avantage d'évacuer rapidement les eaux et d'entraîner les œufs et les larves vers des milieux défavorables à leur développement ou leur destruction rapide est assurée.

- **La mise en boîte des eaux**

Elle consiste à concentrer les eaux dans les tranchées, et par conséquent réduire la superficie du gîte à empoisonner. Cette méthode est utilisée dans le cas de gîtes importants situés loin d'un récepteur naturel.

- **Le comblement**

Il consiste à éliminer les gîtes de petite superficie, et de profondeur moyenne à l'aide de matériaux (pierres débris de construction).

- **Le boisement**

Il s'agit de la plantation d'arbres, Eucalyptus ou autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau à faible débit.

### 7.2.1.3- Lutte chimique

Elle consiste à utiliser des corps chimiques qui tuent les larves et les pupes de moustiques. Leur usage se fait sur des gîtes larvaires qui ne peuvent être drainés ou

comblés ou lorsque les autres méthodes de contrôle s'avèrent trop onéreuses ou impossibles. Il existe plusieurs sortes de larvicides chimiques :

- **Le pétrole et ses dérivés**

Sont utilisés pour les eaux stagnantes impropres à l'irrigation ou à la consommation par les animaux. Ils forment un film à la surface de l'eau, empêchant les larves de respirer.

- **Les insecticides chimiques courants**

Les organophosphorés en dépit des niveaux de résistance en augmentation dans certaines régions sont les plus utilisés.

Le Temephos (56-112 g/ha) du fait de sa faible toxicité sur les mammifères a été le larvicide le plus utilisé dans le monde. Il peut être utilisé dans l'eau d'irrigation des récoltes alimentaires, pour le traitement des eaux de boisson mais il est toxique pour les poissons.

Le Fenathion (22-112 g/ha) peut être utilisé à condition de ne pas contaminer l'eau de boisson et les aliments (OMS, 2003).

- **Les régulateurs de croissance des insectes**

Ce sont des composés chimiques hautement toxiques pour les larves de moustiques dont ils empêchent le développement en adultes. Leur coût élevé limite leur usage. Ces produits sont le Diflubenzuron (25-100 g/ha), le Methoprene (20-40 g/ha) et le Pyriproxyfen (5-10 g/ha) (OMS, 2003).

### **7.2.2- Lutte anti-adulte**

Elle réduit les densités de moustiques agressifs et, la longévité des femelles.

Sa mise en œuvre dépend de l'écologie de l'insecte et des modalités de transmission (saisonnalité)

#### **7.2.2.1- Moustiquaires imprégnées d'insecticide et autres supports traités par insecticides.**

Lorsqu'elles sont en bon état et que la taille de leurs mailles est adaptée, les moustiquaires offrent une bonne protection mécanique pour limiter le contact entre les vecteurs et les humains.

Toutefois, lorsqu'elles ne sont pas imprégnées d'insecticide, elles ont une efficacité limitée dès qu'elles sont mal bordées, trouées ou plus fréquemment, lorsqu'une partie du corps touche le voilage permettant ainsi aux moustiques de piquer à travers les mailles.

Quel que soit l'endroit choisi pour dormir (à l'intérieur ou l'extérieur d'une habitation), l'utilisation d'une MII protège son utilisateur. Le double effet, insecticide et excito-répulsif, entraîne une diminution du nombre de moustiques dans les chambres où elles sont installées, et confère donc une protection partielle à l'utilisateur lorsqu'il dort dans sa moustiquaire, mais également aux personnes dormant sans moustiquaire dans la même pièce.

#### **7.2.2.2- Pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides à effet rémanent**

Il s'agit d'une méthode de lutte anti-vectorielle très employée. L'effet principal des insecticides est de tuer les moustiques quand ils pénètrent dans les maisons et se posent sur les surfaces traitées. Les pulvérisations ne sont ni efficaces ni utiles pour lutter contre les vecteurs qui préfèrent se poser à l'extérieur des habitations (moustiques exophiles). En revanche, elles pourraient être efficaces pour les moustiques qui piquent à l'extérieur puis entrent dans les maisons pour se reposer après leur repas (moustiques endophiles).

#### **7.2.2.3- Amélioration de l'habitat humain**

Elle permet d'empêcher l'entrée des moustiques et leur repos à l'intérieur. La protection par des moustiquaires aux fenêtres, aux avancées des toits, aux portes est une méthode efficace si elle est bien faite et entretenue. Les implantations de nouvelles habitations doivent être planifiées (plan, matériaux de construction, localisation par rapport aux gîtes) pour prévenir le paludisme (OMS, 2003).

#### **7.2.2.4- Répulsifs**

Les répulsifs existent sous forme de crème, de lotion ou d'aérosol, qui peuvent être appliqués directement sur la peau ou sur les vêtements. L'usage des répulsifs est une mesure de protection individuelle.

#### **7.2.2.5- Spirales anti-moustiques**

Les spirales sont très populaires et largement utilisés. Les spirales brûlent lentement et régulièrement pendant 6-8 h, libérant l'insecticide dans l'air qui tue ou éloigne les moustiques à distance.

#### **7.2.2.6- Vêtements protecteurs**



L'utilisation de certains vêtements couvrant la plus grande partie du corps fournit un certain niveau de protection personnelle contre les piqûres de moustiques (OMS, 2003).

### **7.2.3- Lutte génétique**

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

Cette méthode de lutte a pour but d'introduire au milieu des populations naturelles un nombre important d'individus génétiquement modifiés.

Il existe de nombreux procédés de modification du patrimoine génétique des moustiques tel que celui élaboré par l'Américain Kimpling en 1937 qui consiste à utiliser des mâles stérilisés au moyen d'irradiations ou de substances chimiques.

Ces mâles stériles vont s'accoupler avec des femelles sauvages qui en définitive pondront des œufs non viables et n'engendreront pas de descendance (Mouchet., 1991). D'autres méthodes reposent sur l'utilisation de l'incompatibilité cytoplasmique. Celle-ci consiste à sélectionner dans des élevages, des mâles hybrides nés cette fois, de la multiplication des souches dont les origines sont géographiquement éloignées. Le lâcher de ces mâles hybrides dans des populations indigènes aboutit, comme pour le cas précédent, à des croisements qui engendrent des œufs non viables. La translocation des chromosomes permet d'introduire de graves aberrations chromosomiques au niveau des adultes. Ces translocations encore en expérimentation sont transmissibles de façon héréditaire et devraient si elles sont soutenues sur de petites échelles, provoquer la disparition des populations naturelles (Zakharova, 1983). Les effets des translocations sont multiples. Elles se manifestent généralement par une baisse de fertilité et de la longévité des moustiques, une production élevée de mâles et une baisse notable de leur capacité vectorielle (Davidson, 1974). Bien que la lutte génétique ait montré la faisabilité sur des aires restreintes, elle n'en demeure pas moins une méthode onéreuse, qui demande du personnel qualifié et du matériel de haute technologie.



## **IV - MATERIELS ET METHODES**

### **1- Lieu d'étude (Nanguilabougou)**

NANGUILABOUGOU

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

**Source:** GIS du MRTC de Bamako

#### **1.1-Localisation géographique.**

Village de la commune rurale de Bancoumana, situé à 63 km au Sud-ouest de Bamako soit à 3 km de Bancoumana. Il fait partie de l'Arrondissement de Sibi (cercle de Kati). Il est limité au Nord par le village de Sibi, chef lieu d'Arrondissement, au Nord-Est

par le village de Bancoumana, Nord-Ouest par le village de Kouroubabougou, au Sud-Ouest par Niagadinabougou et au Sud-Est Par le fleuve Niger.

### **1.2-Population.**

Village cosmopolite peuplé de près de 628 habitants (2008), composé des familles Malinké, Peulh, Bambara et Dogons. Cette population est composée en majorité de Malinkés cultivateurs (85%) ; de Peuhls éleveurs (10%), de Bambara, de Sonikés, de Dogons, de Somono et de quelques Bozo pêcheurs. L'islam est la religion dominante à coté du christianisme et des vieilles coutumes animistes.

### **1.3- Historique.**

La création du village remonterait au 18ème siècle quand les fondateurs Vinrent occuper l'actuel site quittant leur village d'origine (Nanguila, qui se trouve sur la rive droite du fleuve), qui se trouvait sous l'occupation des troupes de Almamy Samory Touré. Le mot Nanguilabougou signifie en Bambara Nanguila bougou (le hameau de Nanguila).

### **1.4- Climat et végétation.**

Nanguilabougou est situé dans la zone soudano-guinéenne. Le climat est de type soudanien, avec des températures très variables au cours de l'année dont les plus basses (18°C) sont observées au mois de janvier et les plus élevées au mois de mai (38°C).

La mousson, vent maritime, et l'harmattan, vent continental, se succèdent le long de l'année.

On y observe une saison pluvieuse (mai à octobre), et une saison sèche divisée en saison sèche fraîche (novembre à janvier) et en saison sèche chaude (février à mai).

La végétation est du type de savane herbeuse avec quelques galeries forestières le long du fleuve Niger. On y rencontre des grands arbres comme le karité (*Vitellaria paradoxa*) le Néré (*Parkia biglobosa*), le manguier, l'oranger, et des arbustes recouvrant une strate herbacée.

La faune est constituée surtout par de petits mammifères notamment les lièvres, les hérissons et quelques phacochères. Les reptiles sont représentés par les margouillats, et quelques espèces venimeuses de serpent.

### **1.5- Reliefs et hydrographies.**

#### **❖ Reliefs**

Les reliefs de Nanguilabougou se composent de :

- Glacis d'érosion : cette unité d'une superficie de 144 ha est localisée au nord du village. Elle s'étend dans la plaine alluviale en bande longitudinale de direction Ouest-Est. Elle est caractérisée par des sols gravillonnaires peu profonds avec souvent de faibles recouvrements de sols hydromopes de texture limono-argileuse.
- Plaine alluviale : s'étendant sur une superficie de 944 ha, cette unité occupe tout le centre du terroir hormis la bande gravillonnaire. Les sols de cette unité, de texture limono-argilo-sableuse, sont fertiles et sont aptes à supporter toute une gamme variée de cultures.
- Bas-fond : il occupe les parties extrêmes Nord et Sud du Village. Située en position topographique basse, l'unité est exploitée pour le maraîchage et la riziculture. Elle couvre une superficie totale de 528 ha.
- Bourrelet de berge : cette unité, d'une superficie totale de 112 ha, borde les eaux du fleuve Niger. Elle sert de culture de sorgho, gombo, et maïs surtout.

#### ❖ Hydrographies

Les deux principaux cours d'eau arrosant le village sont : le Koba coulant à la limite Nord du village et le fleuve Niger limitant le village au sud. Ces deux cours d'eau sont d'une importance capitale pour l'économie du village, ils sont utilisés surtout pour le maraîchage, la pêche et l'abreuvement des animaux. En plus de ces deux cours d'eau existent trois mares (Somadji, Missilami dalani et Faratéba dalani) toutes situées au Sud du village. Elles sont utilisées surtout pour la pêche et l'abreuvement des animaux.

### 1.6- Economie.

Les ressources naturelles du village sont représentées par les produits de cueillette (noix de karité, fruits de Néré, et le tamarin), le sable, le gravier, et des traces de métal jaune (non encore prospectées).

Les principales composantes des systèmes de production sont : l'agriculture, l'élevage. La chasse et la pêche sont des activités secondaires.

L'agriculture est basée sur les cultures vivrières (mil, sorgho, riz, maïs et haricot) ; les cultures maraîchères (tomate, oignon, goyave, tabac, arachide et pastèque) ; ainsi que les cultures de plantation (manguier, bananier, oranger, citronnier, manioc et papayer).

Les populations pratiquent l'élevage de bovins, d'ovins (moutons), de caprins (chèvres), d'équins (ânes et chevaux), et de volaille (poules et pintades).

La pêche pratiquée dans le fleuve est appréciée par la présence de poissons de diverses variétés.

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

### **1.7- Organisation sociale et administrative.**

Le chef du village est nommé au sein du lignage « **DOUMBIA** » par les villageois en fonction de l'âge. Il est assisté d'un conseil de village élu par une assemblée du village.

### **1.8- Infrastructures.**

Le village dispose d'une école fondamentale de 3 classes (1<sup>ère</sup> ; 2<sup>ème</sup> ; 3<sup>ème</sup> année).

Les élèves admis en classe de 4<sup>ème</sup> année poursuivent leurs études dans les différents établissements de Bancoumana et de Bamako.

Aujourd'hui le village ne dispose pas de centre de santé.

Autres infrastructures :

- un centre culturel réalisé par le FODEM équipé d'un poste téléviseur et des plaques solaires.
- un centre d'alphabétisation

## **2- Justification du choix de Nanguilabougou.**

Les raisons suivantes justifient le choix de ce village comme site de notre étude.

- ❖ Les études entomologiques conduites dans la zone ont révélé que :
  - le complexe *An. gambiae* est le vecteur majeur de la transmission du paludisme (98,93 %) tandis qu'*An. funestus* ne représente que 1,07 % (Mme Hadiza),
  - la prévalence de l'infection palustre parmi les enfants de 0 à 10 ans est supérieure ou égale à 85 % pendant les 5 mois de la saison pluvieuse (juin-octobre)
- ❖ Le village connaît moins de pression médicamenteuse dans le cadre de la recherche par rapport à beaucoup d'autres villages voisins.
- ❖ Le village est d'accès facile en toute saison de l'année.

## **3- Type et Période d'étude**

C'est une étude expérimentale, longitudinale avec des passages répétés (deux fois par mois) pour toutes les 2 équipes entomologique et parasito-clinique.

L'étude s'est déroulée de Septembre 2010 à Janvier 2011 et 7 passages ont été effectués.

#### **4- Caractérisation des gîtes larvaires d'*Anopheles gambiae* s.l**

##### **4.1- Cartographie GPS/GIS**

Le travail s'est déroulé en 3 jours. Le premier jour de l'enquête a été consacré à la revue et mise en ordre des questionnaires, la constitution des équipes de travail et la prise de contact préliminaire avec les chefs coutumiers du village. Le village a été divisé en 2 blocs d'habitations pour les concessions et la 3<sup>ème</sup> pour les gîtes. Un guide local accompagnait chaque équipe pour l'introduire auprès des chefs de concession. L'attribution d'un numéro d'identification unique à la concession, ses coordonnées géographiques et les principaux chemins reliant les blocs d'habitations étaient enregistrés dans un GPS.

##### **4.2-Caractérisation environnementale**

Après avoir identifié les principaux gîtes larvaires grâce l'aide des guides, nous avons classé les gîtes en 4 principaux types de gîtes larvaires en fonction des caractéristiques physiques cités ci-dessous :

- ❖ **Type de gîtes** : Permanant ou temporaire, naturel ou artificiel,
- ❖ **Eau** : stagnante ou mobile, claire ou trouble,
- ❖ **Nature de la terre** : rocheuse, latéritique ou Boueuse etc.,
- ❖ **Végétation** : herbes, buissons, arbres etc.

##### **4.3-Caractérisation de la flore bactérienne**

- ❖ **Matériels**
  - GTS
  - Gélose BCP
  - Tubes stériles
  - Inoculateur usage unique 10µl
  - Pipette Pasteur boutonnée
  - Eau physiologique stérile
  - Lame porte objet
  - Microscope binoculaire olympus CX31

- Huile d'immersion
- Portoir de lames
- Etuve
- Galerie d'identification

#### ❖ **Mode opératoire des examens bactériologique**

Nous avons prélevés des échantillons d'eau et de larve pour l'examen bactériologique. Le tube Falcon 50 ml stérile a été utilisé pour le prélèvement de l'eau et des larves au niveau des différents gîtes larvaires. Avant chaque prélèvement le numéro du gîte, le type d'échantillon, la date et l'heure de prélèvement étaient mentionnés sur l'étiquette de chaque tube. Ensuite nous avons collecté les larves de stade IV pour chaque type de gîte larvaire, ce qui nous a permis d'avoir des adultes pour chaque type de gîte. L'échantillon ainsi prélevé (l'eau de gîte, larve et adulte de moustique) a été acheminé immédiatement au laboratoire (service bactériologique de l'INRSP de Bamako), gardé au frais (4°C) et traité dans les 72h.

#### ✓ **Traitement de l'eau des différents gîtes larvaires**

##### **Dilution**

1/10 on prend 1ml d'eau de gîte contre 9ml d'eau physiologique stérile

1/100 on prend 1ml de solution 1/10 contre 9ml d'eau physiologique stérile

1/1000 on prend 1ml de solution 1/100 contre 9ml d'eau physiologique stérile

Ensuite on ensemence les solutions sur gélose BCP et GTS

#### ✓ **Traitement des larves et adultes de moustiques des différents gîtes larvaires**

Les larves et adultes de moustiques ont été lavés 3 fois avec l'eau physiologique stérile, broyés dans un tube stérile avec des billes stériles et ensemencés sur GTS et Gélose BCP

#### ✓ **Ensemencement sur gélose**

Il permet s'il est bien réalisé, d'obtenir des colonies isolées, donc d'obtenir des cultures pures d'une espèce bactérienne.

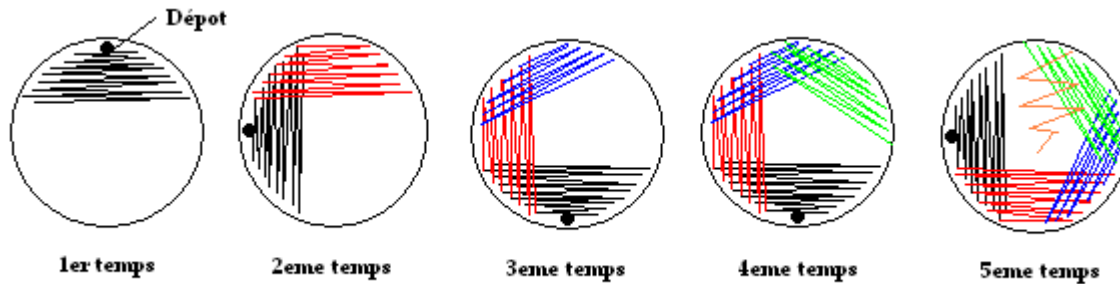
Le principe de ce type d'ensemencement est d'épuiser un dépôt initial en faisant des étalements successifs dans différentes directions.

Description de la technique en étalements successifs:

- Dépôt initial de la souche près d'un bord d'une boîte de gélose BCP et GTS
- Etalement de ce dépôt en réalisant des stries serrées sur environ 1/3 de la boîte



- Stérilisation de l'instrument d'étalement
- Etalement d'une partie des stries précédentes, après avoir fait tourner la boîte d'environ 50 °
- Répétition des deux étapes précédentes 2 fois.
- Faire un Z final vers le centre de la gélose



**Figure 8:** Illustration d'ensemencement des germes sur gélose.

#### ✓ Incubation

Après un ensemencement les boites de gélose sont conservées dans un incubateur (étuve) pendant 18h. Si la technique est correctement réalisée et si le dépôt n'est pas trop important, après incubation, la boîte doit présenter des colonies isolées en son centre.

**Photo 2:** colonies de germes sur GTS (Source : INRSP 2010)

#### ✓ Coloration

Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame de verre.  
 Prélever un fragment de colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.  
 Dissocier soigneusement l'inoculum dans la goutte d'eau et laisser sécher.  
 Fixer par flambage à l'alcool à 95°.  
 Recouvrir la lame de violet de gentiane phéniqué et laisser agir une minute.

Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.

Recouvrir la lame de lugol et laisser agir une minute.

Rincer à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.

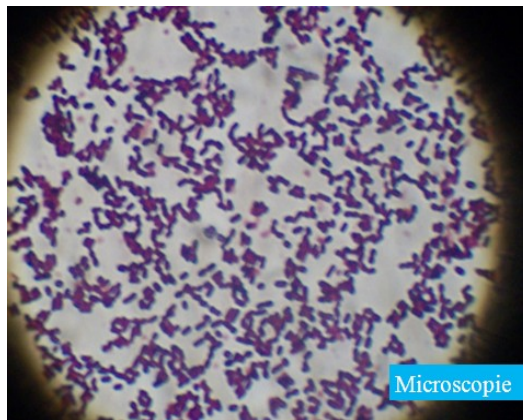
Différencier (décolorer) avec un mélange alcool -acétone. Ce temps est le plus délicat de la coloration de Gram.

Rincer abondamment à l'eau du robinet.

Recouvrir la lame de fuchsine de Ziehl 1/10 et laisser agir une minute.

Rincer à l'eau du robinet.

Sécher puis observer au microscope (objectif x100 à immersion).



***Photo 3 :*** Microscopies des bacilles à gram positif

✓ **Identification des germes**

Les germes ont été identifiés à partir de galerie API, il nous est arrivé quelque fois que la galerie API ne soit pas disponible, dans ce cas nous avons utilisé la galerie d'identification classique. Puisque la galerie classique ne peut identifier les B<sup>-</sup> et les C<sup>+</sup>, on utilisait respectivement le test d'oxydase et le test catalase pour leur identification.

#### **4.4-Mesure de la température et du pH des gîtes larvaire**

Au cours de chaque passage de collecte des larves, nous avons déterminé la température des gîtes à l'aide d'un thermomètre à mercure.

On ajuste le thermomètre jusqu'à ce que le mercure descende au niveau 0, ensuite on place le thermomètre dans l'eau de gîte pendant 5mn.

La bandelette à PH a été utilisée pour déterminer les PH des gîtes larvaires. On coupe un morceau de bandelette à PH, on plonge le morceau de bandelette dans l'eau des gîtes et dans les secondes qui suivent on assiste à un virement de la coloration de la bandelette vers la couleur correspondant au PH de l'eau.

## 5- Etude de la Population anophélienne

### 5.1- Collecte des larves

Tous les gîtes potentiels étaient répertoriés et caractérisés en fonction de leur aspect physique (gîte permanent ou temporaire, le diamètre, la profondeur, l'ensoleillement, la couleur de l'eau et productivité du gîte en larves). Ainsi nous avons classé les gîtes en leur attribuant les numéros I, II, III et IV.

Des passages répétés (bimensuels) ont été organisés à distance des pluies pour éviter le lessivage des gîtes larves. Les larves d'*An. gambiae s.l* ont été collectées aux stades L3 et L4 à l'aide d'une louche. Les larves provenant d'un même type de gîte larvaire ont été rassemblées dans les plateaux en plastique portant le numéro de gîte larvaire correspondant. Après la collecte, les larves ont été conditionnées afin de les acheminer au laboratoire MRTC à la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie



**Photo 4:** séance de collecte des larves

### 5.2- Suivi des larves à l'insectarium

L'élevage se poursuit à l'insectarium ; salle dans laquelle sont réunies certaines conditions nécessaires pour le développement optimal des moustiques. Ils y sont maintenus à une température variant entre 26 - 28°C avec une humidité relative comprise entre 70 et 80 %. Pour simuler l'alternance jour et nuit, l'insectarium est illuminé 12 heures sur 24. Ces larves étaient nourries des débris organiques de l'eau des gîtes prélevés au moment des

collectes des larves. Les imagos issus des larves étaient nourris avec du jus sucré à 5%, renouvelé tous les jours.

### **5.3- Identification des formes moléculaires (M et S) utilisé comme témoin**

Nous avons collecté des larves L3 et L4 dans le gîte larvaire I que nous avons trouvé très productif en larves. Ces larves une fois au stade nymphal, étaient réparties individuellement dans les tubes Falcon 50ml fermés par les tulles moustiquaires; après l'émergence, le sexe des adultes étaient déterminé morphologiquement à travers le tulle moustiquaire. Ainsi nous avons regroupé les males dans la cage des males et les femelles dans une autre cage dite cage des femelles. Ceci avait pour raison d'éviter l'accouplement entre les moustiques de deux sexes différents dans le but d'empêcher la formation des hybrides M/S.

Ensuite on procédait à la dissection des pattes antérieures des moustiques après anesthésie (voir annexe, page 74). Les pattes étaient conservées dans les tubes ependorf 0,5ml pour leur identification à la PCR et les moustiques dans les tubes Falcon et couvert des tulles moustiquaires avant leur réveil.

Les notations étaient faites de façon suivante :

Pour les males dont les pattes ont été coupées : M1, M2, M3; pour les pattes correspondantes : PM1, PM2, PM3.

Pour les femelles dont les pattes ont été coupées : F1, F2, F3; pour les pattes correspondantes: PF1, PF2, PF3.

Après l'identification des pattes, les males M forme ont été ajoutés aux femelles M formes et les males S forme ont été ajoutés aux femelles S formes. Ainsi nous obtenons une colonie de M et de S forme pure.



***Photo 5:*** Nymphes réparties individuellement dans les tubes Falcon (Source : MRTC 2010)

Nous avons utilisé la technique de Fanello *et al*, 2002(voir annexe) qui permet d'identifier à partir de la même patte l'espèce et la forme moléculaire de l'échantillon d'*An. gambiae s.l.* Les moustiques identifiés étaient destinés à l'élevage de la colonie M et S.

#### **5.4- Elevage de M et S (colonie de laboratoire)**

A la veille de chaque séance d'infestation les moustiques de laboratoire étaient gorgés. Une fois qu'ils sont gravides la ponte collective était organisée.

L'élevage des larves de colonie M et S de laboratoire était similaire à celui des larves des gîtes seulement contrairement aux larves des gîtes, celles de la colonie M et S étaient nourries de poudre d'aliments à base de lait, calcium et des sels minéraux (Friskies®).

Comme les adultes issus des larves de différents gîtes, les adultes M et S de laboratoire étaient nourris au jus sucré 5%.

Deux à quatre jours après l'émergence, les femelles de la colonie (témoins) et celles provenant des différents types de gîtes étaient appliquées au sang d'un même porteur de gamétoocyte. Ce processus était répété pour chaque infestation expérimentale.

### **6- Etude de l'infestation expérimentale**

#### **6.1- Sensibilisation de la population.**

Une rencontre a été organisée entre les représentants du laboratoire, le chef de village et ses conseillers pour expliquer les objectifs du travail. Après accord, les conseillers informent les chefs de famille. Le protocole d'étude est alors soumis, avec l'accord verbal des villageois, au comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS). Le travail a été exécuté après accord du comité d'éthique de la faculté et consentement Verbal de la communauté de Nanguilabougou représentée par le chef du village et les conseillers.

#### **6.2- Sélection des familles.**

Cent enfants sont choisis par passage de façon aléatoire parmi les différentes familles de Nanguilabougou et hameau. Quatre meilleurs porteurs sont sélectionnés par passage.

#### **6.3- Sélection des porteurs de gamétoocytes**

Notre échantillon d'étude a porté sur les enfants âgés de 4-12ans. C'est la tranche d'âge la plus touchée et qui infeste mieux les moustiques (Touré et al, 1998). Les études antérieures menées dans la zone ont indiqué que la prévalence en gamétocytes dans la population générale est de 14,92%.

Un groupe de 100 enfants est consulté de façon rotative par passage et parmi eux les meilleurs porteurs de gamétocytes (sujet porteur des gamétocytes mature et/ou nombre élevé des gamétocytes) sont sélectionnés pour les expériences au laboratoire.

La Sélection des porteurs de gamétocytes consiste à identifier les porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* dans la population d'enfants sélectionnés de 4 à 12 ans par la technique de goutte épaisse.

L'équipe parasito-clinique, le matin du jour de travail, fait venir les enfants au centre par les guides. Les enfants sont identifiés par famille avec un numéro d'enregistrement, âge, sexe, noms du père, de la mère ou du tuteur. Un ticket leur est remis comportant : le nom, le prénom, le numéro d'identification, l'âge. Le clinicien fait la palpation de la rate, relève la température et le poids corporel de chaque sujet.

❖ **Matériel de prélèvement et confection de gouttes épaisses.**

- Lames porte objet en verre bien nettoyées et emballées (les lames dévitriifiées ou rayées doivent être écartées).
- Vaccinostyles stériles à usage unique
- Coton hydrophile ou compresse de gaze
- Antiseptique : Alcool à 90 °
- Boite de stockage et de transport des lames
- Poubelles
- Formulaire de notification
- Crayon noir à mine grasse
- Stylo à bille

❖ **Méthode**

- Préparer tout le matériel en prenant soin d'essuyer les lames avec un tissu sec et propre afin de les dégraisser ;
- Nettoyer l'endroit à piquer (face palmaire du bout du 3ème doigt gauche) avec un coton imbibé d'alcool puis le laisser sécher quelques secondes;
- Serrer la partie proximale du doigt propre avec la main gauche et pratiquer une piqûre rapide avec la main droite à l'aide du vaccinostyle. Essuyer la première

goutte avec un coton sec. Parfois une légère pression est nécessaire pour ramener les gouttes suivantes.

- Prélever une goutte de sang au centre de la lame ;
- Désinfecter l'endroit piqué avec un coton imbibé d'alcool.
- Déposer la lame sur une surface plate régulière et prendre une 2ème lame pour confectionner la goutte épaisse
- L'angle d'une 2<sup>ème</sup> lame sert à défibriner la goutte de sang. La défibrination est réalisée par mouvement en spirale et sert à étaler la goutte sous forme d'un disque d'un centimètre de diamètre. Une goutte trop étalée perd l'intérêt de concentration.
- Rédiger le formulaire de prélèvement.
- Laisser sécher la lame à l'ombre, en position horizontale à l'abri des mouches et de la Poussière.
- Incrire lisiblement au crayon gras noir sur l'étalement mince, une fois sec, le numéro Correspondant au formulaire de prélèvement.
- La réalisation de la goutte épaisse constitue la première étape essentielle au diagnostic biologique. Une mauvaise confection entraînerait des difficultés d'examen microscopique et de ce fait des erreurs de diagnostic.

#### ❖ **Coloration des lames.**

La coloration des lames était faite au Giemsa à 5% (c'est à dire 5 ml de Giemsa pur pour 95 ml d'eau distillée tamponnée). L'eau tamponnée était préparée à l'aide de 1 comprimé tampon pour 1L d'eau distillée. De manière à obtenir un PH=7.2

#### ❖ **Matériels et réactifs.**

- Giemsa pur
- Comprimé tampon (Buffer tablet pH=7,2)
- Eau distillée
- Râtelier
- Bac de coloration
- Microscope optique binoculaire (Olympus)
- Huile d'immersion
- Compteur manuel

- Calculatrice
- Eprouvette graduée
- Groupe électrogène avec rallonge et stabilisateur

❖ **Technique**

- Immerger Les lames dans le bac de coloration contenant la solution de Giemsa à 5% pendant 40 mn,
- Rincer les lames à l'eau de robinet, puis les sécher sur le râtelier à l'air ambiant.

❖ **Lecture**

L'observation se fait au microscope à l'objectif 100 en immersion. Le comptage à l'aide du compteur manuel porte sur les parasites et les leucocytes. Il débute dès l'observation d'un parasite dans le champ et finit quand le nombre de leucocytes atteint 1000. La charge parasitaire est exprimée en rapportant le nombre de parasites pour les 1000 leucocytes à 8000 leucocytes. Ces 8000 leucocytes étant considérés comme la moyenne du nombre des leucocytes par mm<sup>3</sup> de sang.

❖ **Mode de calcul de la parasitémie**

Soit P la parasitémie par mm<sup>3</sup> de sang, X le nombre de parasite comptés et Y le nombre de leucocytes correspondant à X. La parasitémie P est déterminée par la formule suivante :  

$$P = (X / Y) \times 8000 \text{ parasites par mm}^3 \text{ de sang.}$$

#### **6.4- Convocation des porteurs et transport au laboratoire**

Après lecture des lames, les guides vont chercher tous les porteurs de gamétocytes sélectionnés . Les porteurs les plus chargés sont acheminés au laboratoire à Bamako, accompagnés d'un guide.

Une fois au laboratoire le parent qui accompagne les enfants est tenu informé de toute l'expérimentation. Ici se tiennent les séances d'infestation : une séance d'infestation sur membrane pour chaque porteur.

#### **6.5- Sélection des moustiques pour l'infestation**

Pendant que l'équipe parasito-clinique est sur terrain pour sélectionner les porteurs de gamétocytes, l'équipe entomologique sélectionne les moustiques de l'infestation dans l'insectarium.



Les spécimens *An. gambiae s.l* adulte issus des différents gîtes larvaires et les témoins de laboratoire ont été utilisés pour les séances d'infestation à raison 120 moustiques femelles par séance. Les 120 moustiques étaient repartis entre 3 pots contenant chacun 30 anophèles femelles provenant du même type de gîte larvaire et 1 pot contenant 30 femelles témoin. Les moustiques ont été gorgés sur le sang d'un même porteur de gamétocytes. Les femelles étaient mises-en jeun au moins pendant 12h. Un millilitre de sang était prélevé sur chacun de nos porteurs et reparti entre les 4 mini-feeders (200µl de sang/feeder)

## **7- Séance d'infestation expérimentale au laboratoire**

### **7.1- Critères d'inclusion :**

- Etre âgé de 4 à 12 ans,
- Avoir une GE positive en gamétocyte de *Plasmodium falciparum*,
- Avoir une bonne coloration des muqueuses et conjonctives ou un taux d'hémoglobine  $\geq 7$  g/dl,
- Etre résident permanent du village de Nanguilabougou ou hameau,
- Etre bien portant et volontaire ; signataire de la fiche de consentement individuel.

### **7.2- Critères de non inclusion**

- Age  $< 4$  ans et  $> 12$  ans
- Pâleur des conjonctives et muqueuses ou un taux d'hémoglobine  $\leq 7$  g/dl
- Volontaire physiquement défaillant et non consentant.
- Goutte épaisse négative en gamétocytes de *P. falciparum*.

### **❖ Matériels**

- Un feeder-machine muni d'un thermorégulateur,
- Un bain marie : rempli d'eau, dans lequel est plongé la partie basse de feeder-machine (la partie chauffe-eau),
- Un feeder de petit calibre (mimi-feeder) (voire photo),
- Deux supports servant à maintenir les pots sur place,
- Deux raccords longs reliant le feeder au feeder-machine,
- Des morceaux de raccords reliant un feeder à un autre,
- Des morceaux de parafilm pouvant couvrir la grande ouverture du feeder sont découpés. Cette grande ouverture du feeder est fermée par le morceau de parafilm à l'aide d'un bracelet en plastique.

## ❖ Méthodes

Infection sur membrane (membrane feeding) a été utilisée pour l'infection des moustiques avec le sang contenant les gamétocytes de *P. falciparum*.

Quatre pots étaient utilisés par porteur : 1 pot contenant 30 femelles des 3 gîtes larvaires plus un pot témoin ont été gorgés sur le sang du même porteur de gamétocytes de *P. falciparum*.

Des inscriptions étaient portées sur les pots pour indiquer le jour où l'infestation a été effectuée, le numéro de gîte larvaire, le nom et prénom du porteur. Les infestations ont été faites dans l'insectarium.

L'étiquetage des pots variait en fonction du porteur, du gîte, exemple (P1GIP1 : premier porteur, Gîte larvaire I, pot 1 ; P1GIIP2 : premier porteur, Gîte larvaire II, pot 2 ; P2G1P1 : deuxième porteur, Gîte larvaire I, pot 1 et P2G2P2 : deuxième porteur, Gîte larvaire II, pot 2, P2TP4 : deuxième porteur, Témoin, pot 4 etc..).

Le feeder-machine était mis en marche et ajusté à 37°C à l'aide de thermorégulateur au moins 10 à 15 minutes avant d'appliquer le sang du porteur. Le feeder-machine contient de l'eau qui circule à travers les feeders maintenant ainsi la température constante à 37°C jusqu'à la fin des opérations. Un millilitre de sang veineux est recueilli sur chaque porteur de gamétocytes et réparti entre les quatre mimi-feeder posés sur les quatre pots contenant chacun les moustiques de l'infestation pendant 15-20 mn.

**Feeder Machine**

**Feeder**

**Conduit (raccord)**

**Bain Marie**

**Pot1: Mosq-GîteI   Pot2 : Mosq-GîteII   Pot3 : Mosq-GîteIV   Pot4: Mosq-Labo**

***Photo 6:*** Appareillage de l'infection sur membrane (membrane feeding)

Source : MRTC 2010



***Photo 7 :*** Moustiques se gorgent de sang à travers la membrane

### **7.3- Elevage et dissection des moustiques issus des séances d'infestation**

Au lendemain de chaque séance d'infestation, les femelles n'ayant pas suffisamment pris du sang et celles n'ayant pas du tout pris le repas de sang étaient soustraits des gorgées. Le nombre de moustiques ayant donc pris le repas de sang était enregistré sur une fiche de paillasse afin d'évaluer le taux d'engorgement. Les femelles

gorgées étaient transférées dans les cages en carton de forme cylindrique de 15 cm de diamètre, 30 cm de hauteur et nourries du jus sucré à 5%, renouvelé chaque jour.

Tous les jours, les moustiques sont suivis, pour extraire les moustiques morts. Au 8<sup>ème</sup> jour de l'expérimentation, le taux de survie correspondra au nombre de moustique gorgé moins le nombre de moustique mort multiplié par cent.

Les moustiques sont disséqués individuellement et selon la provenance, c'est-à-dire le gîte dans lequel la larve a été collectée. Nous avons attribué des identifiants (numéro et origine du repas sanguin) à chaque moustique disséqué.

#### ❖ **Matériels**

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

#### ❖ **Méthode**

Agiter le pot contenant les moustiques pour assommer les moustiques sans les écraser puis les mettre dans une boîte de Pétri qui contient du papier absorbant mouillé. Ce qui empêche certains moustiques qui se réveillent de s'échapper.

Une goutte de mercurochrome 0.5% est déposée sur la lame porte-objet. Le moustique est déposé dans cette goutte sur la face dorsale. Au travers de la loupe appuyer avec l'aiguille au niveau du deuxième segment partant du thorax et maintenir la pression. Par la pince tirer sur les deux derniers segments d'un mouvement continu et doux. L'estomac est ainsi extrait avec les ovaires et/ou les œufs et les tubes de Malpighi. Enlever les autres éléments et bien étaler l'estomac pour la lecture au microscope entre lame et lamelle. (Voire photo 8)

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

Les carcasses des moustiques disséqués sont mises dans des microtubes et conservées à froid -70°C dans le REVCO. Ces carcasses seront traitées avec différents marqueurs pour génotypage.



**Photo 8:** Séance de dissection des moustiques et microscopie des oocystes sur lame.

Source : MRTC 2010

## **8- Identification des carcasses des moustiques après dissection**

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

Vue la taille de l'échantillon, nous avons traité 1 moustique sur 3 de façon aléatoire (si la carcasse N°1 est traitée, les deux numéros suivants ne le sont pas et le N°4 est traité ainsi de suite). Une patte de moustique disséquée a été prélevée pour l'identification de l'espèce et/ou formes moléculaires.

## **9- Saisie et analyse des données.**

Les données ont été enregistrées sur des fiches de dissection, saisies sur SPSS 12.0 et le texte sur Microsoft® Word 2007. Les analyses ont été effectuées sur SPSS 12.0, test statistique utilisé était le khi 2 (significatif pour  $P < 0.05$ ) au laboratoire du MRTC.



## **V- RESULTATS**

**1- Caractérisation des différents gîtes larvaires *d'An. gambiae s.l.* et les porteurs de gamétoocyte à Nanguilabougou**

**1.1- Caractérisation des différents gîtes larvaires *d'An. gambiae s.l.***

**1.1.1- Cartographie des différents gîtes larvaires**

***Figure 9*** : Les différents types de gîtes larvaires (Source: GIS/MRTC)

Au total 4 gîtes larvaires ont été identifiés, prospectés et suivis pendant la durée de l'étude, le gîte larvaire III sera abandonné par la suite à cause de sa non production en larve et seuls ont été retenus, les gîtes larvaires I, II et IV pour la poursuite de l'expérimentation.

**Gîte I** : marécageux, permanent, artificiel, larges, profondes avec quelques végétations aquatiques et une superficie et un périmètre respectivement de 646,26 m<sup>2</sup> et 152,88 m.

**Gîte II** : latéritique, permanent, artificiel (créés par les activités humaines), fortement ensoleillé avec une superficie et un périmètre respectivement de 467,58 m<sup>2</sup> et 81,45 m.



**Gîte III** : naturel, temporaire, mixte (boue + roche) avec une forte végétation herbacée et aquatique avec une superficie et un périmètre respectivement de 497,76 m<sup>2</sup> et 93,74 m.

**Gîte IV** : naturel, rocheux, mobile pendant la saison de pluie, ensoleillé avec des végétations verticales. Ce gîte a une superficie et un périmètre respectivement de 3155,80 m<sup>2</sup> et 403,28 m.

### 1.1.2- Détermination de la faune bactérienne des échantillons des différents gîtes larvaires d'*An. gambiae* à Nanguilabougou

**Tableau I:** Examens bactériologiques de l'eau, des larves et des adultes de moustiques des différents gîtes larvaires de Nanguilabougou en Septembre 2010.

Types d'échantillons analysés	Différents gîtes larvaires d' <i>An.gambiae s.l.</i>			
	Gîte I	Gîte II	Gîte III	Gîte IV
Eau	<i>Aeromonas</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>Proteus</i> , <i>Shigella</i> <i>Pseudomonas</i> , Staphylocoque	<i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> , Staphylocoque	<i>C. freundii</i> , Staphylocoque	<i>E.coli</i> , <i>P.morganis</i> , Staphylocoque
Larves	<i>Aeromonas</i> , <i>K.oxytoca</i> , <i>Shigella</i>	<i>E.coli</i> , Staphylocoque	Staphylocoque	<i>E.coli</i> , Staphylocoque
Adultes	<i>Aeromonas</i> , <i>K.oxytoca</i> , <i>Shigella</i>	<i>E.coli</i>	Staphylocoque	<i>E.coli</i> , Staphylocoque

*K. oxytoca*= *Klebsiella oxytoca*; *P.morganis* =*Proteus morganis*; *C. freundii*=*Citrobacter freundii*

Ce tableau nous montre que les bactéries présentent chez les adultes des moustiques, ont été retrouvées chez les larves ainsi que dans l'eau des gîtes. On peut donc suggérer que les larves et les adultes des moustiques étaient infectés par les bactéries des gîtes larvaires. Cependant d'autres bactéries présentes dans l'eau des gîtes étaient absentes chez les larves et les adultes des moustiques.

**Eau des gîtes** : les Staphylocoques étaient communs à l'eau de tous les gîtes larvaires, les *E. coli* étaient communs aux gîtes II et IV, les *proteus* aux gîtes I et IV. *Aeromonas*, *K. oxytoca*, *Shigella*, *Pseudomonas* étaient propres à l'eau de gîte I. Les Salmonelles ont été rencontrés uniquement dans l'eau de gîte II, *C. freundii* retrouvé uniquement dans l'eau de gîte III.

**Larves des gîtes :** *E.coli* était commun aux larves des gîtes II et IV, les Staphylocoques aux larves des gîtes II, III et IV. *Aeromonas*, *K.oxytoca*, *Shigella* étaient propres aux larves du gîte larvaire I.

**Moustiques adultes issus des gîtes :** les staphylocoques étaient présents chez les adultes des gîtes III et IV, *E. coli* chez les adultes des gîtes II et IV. *Aeromonas*, *K.oxytoca*, *Shigella* ont été observés uniquement chez les adultes issus du gîte larvaire I.

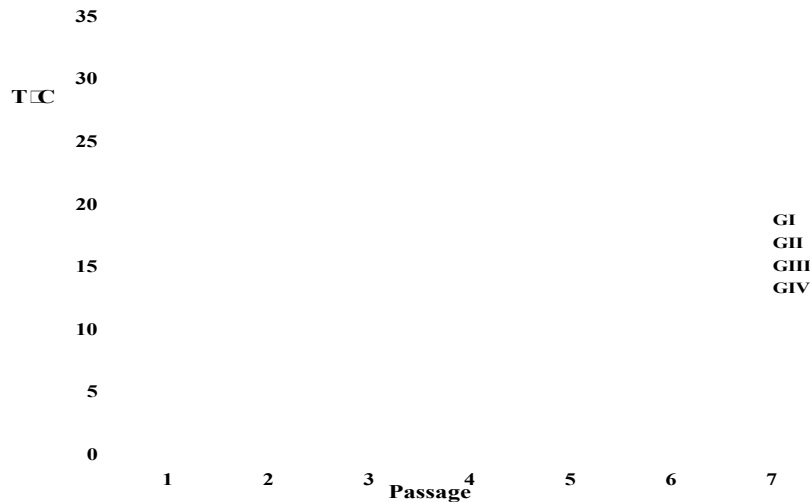
### 1.1.3- Relevés de la température et du pH des gîtes larvaires

**Tableau II :** Variation de la température des gîtes larvaires en degré Celsius (°C) à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.

Gîtes	Passage						
	1	2	3	4	5	6	7
<b>I</b>	28	28	28	25	25	25	26
<b>II</b>	28	28	26	27	26	25	26
<b>III</b>	30	30	28	26	28	26	<b>24</b>
<b>IV</b>	<b>33</b>	33	27	27	26	25	25

Passage 1=30 Septembre, 2= 15 Octobre, 3= 30 Octobre, 4= 15 Novembre, 5= 30 Novembre, 6= 21 Décembre, 7= 23 Janvier.

Le tableau ci-dessus nous montre la variation de la température des gîtes larvaires au cours de nos passages pour la collecte des larves. La température la plus basse a été observée dans le gîte larvaire III (passage 7), et la plus élevée dans le gîte IV (passage 1 et 2). Il n'ya pas de variation statistique significative de la température entre les gîtes larvaires quelque soit le passage ( $X^2 = 42,667$ ; ddl=36;  $P = 0,09$ ), ni entre les gîtes d'un passage à l'autre ( $X^2 = 26,286$ ; ddl=18;  $P = 0,206$ ).



**Figure 10:** Variation de la température selon les passages de collecte des larves.

**Tableau III:** Variation du pH des gîtes larvaires à Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.

Gîtes	Passage						
	1	2	3	4	5	6	7
I	5	5	6	6	6	6	6
II	6	6	7	6	7	6	7
III	6	7	7	7	7	7	7
IV	6	6	6	7	7	6	6

Les pH inférieurs à 7(0 à 6) sont acides, le pH 7 est neutre et les pH supérieurs à 7(8 à 14) sont basiques.

Les pH de l'eau du gîte larvaire I ont été trouvés acides (acide très faible) pendant tout les passages de collecte des larves tandis que les pH de l'eau du gîte III à l'exception du premier passage (pH=6) étaient neutres. Les pH de l'eau des gîtes II et IV étaient acides faibles et neutres selon les passages de collecte des larves. Le pH a varié de façon significative en fonction du gîte larvaire ( $X^2 = 15,685$ ; ddl=6;  $P = 0,016$ ).

## 1.2- Caractérisation des porteurs de gamétocytes chez les enfants de 4 à 12 ans.

L'étude a porté sur un total de 162 enfants d'âge compris entre 4 et 12 ans. Ces enfants après l'examen clinique ont subi un prélèvement de sang pour la goutte épaisse de Septembre 2010 à Janvier 2011.

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

Pourcentage

**40,8%**

**59,2%**

**4-7 ans**

**8-12 ans**

***Figure 11*** : Répartition de la population d'étude par groupe d'âge.

La majorité des enfants avaient un âge inférieur ou égal à 7 ans (l'âge moyen était de 7ans). Le plus jeune avait 4 ans et le plus âgé avait 12 ans.

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

Sexe	Effectifs	%
Masculin	74	45,7
Féminin	88	54,3
<b>Total</b>	<b>162</b>	<b>100</b>

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

### 1.2.2- L'indice gamétocytaire chez les enfants de 4 à 12 ans de Septembre 2010 à Janvier 2011

**Tableau V:** Indice gamétocytaire des enfants de 4 à 12 ans de Nanguilabougou de Septembre 2010 à Janvier 2011.

<b>Période</b>	<b>Effectif</b>	<b>Positifs</b>	<b>Pourcentage</b>
Septembre	77	11	<b>14,3</b>
Octobre	159	19	11,9
Novembre	168	16	<b>9,5</b>
Décembre	85	11	12,9
Janvier	72	9	12,5
<b>Total</b>	<b>561</b>	<b>66</b>	<b>11,76</b>

L'indice gamétocytaire moyen mensuel était de 11,8% (IDC: 95%) compris entre 9,5% (novembre 2010) et 14,3% (septembre 2010).

Il n'y avait pas de variations significatives entre les différents IG ( $X^2 = 1,440$ , ddl = 4, P = 0,837). L'indice gamétocytaire atteint son pic en Septembre.

## 2- Etude des taux d'engorgement et des taux de mortalité des moustiques des différents gîtes et des témoins

## 2.1- Comparaison des taux d'engorgement des moustiques des différents gîtes et des témoins de laboratoire.

**Tableau VI:** Comparaison des taux d'engorgement des moustiques des différents gîtes et des témoins (Septembre 2010 à Janvier 2011).

<b>Lot des moustiques</b>	<b>Nombre exposé</b>	<b>Nombre gorgé</b>	<b>Taux d'engorgement</b>
Gîte I	880	549	62,4
Gîte II	880	536	<b>60,9</b>
Gîte IV	880	596	67,7
Témoin	880	774	<b>88,0</b>
<b>Total</b>	<b>3520</b>	<b>2455</b>	<b>69,7</b>

**NB :** les formes moléculaires M et S ont été identifiées et maintenues dans l'insectarium pour servir de témoin des moustiques des gîtes. La forme S n'a pu résister à la condition de l'insectarium, donc seule la forme moléculaire M a servi de témoin durant toute la période de l'expérimentation.

Au total, 3520 femelles d'*Anophèles gambiae s.l* (soit 880 femelles pour chaque gîte et le témoin) ont été exposées au sang des porteurs de gamétocytes. Parmi les 3520 femelles exposées, 2455 ont été gorgées ce qui représente un taux d'engorgement moyen de 69,7% compris entre 60,9% (gîte II) et 88% (Témoin). Le taux d'engorgement n'a pas subi de variations statistiquement significatives entre les différents lots de moustiques ( $X^2 = 106,901$ ; ddl=93; P = 0 ,154).

## 2.2- Comparaison des taux de mortalité des moustiques des différents gîtes et des témoins de laboratoire.

**Tableau VII :** Comparaison du taux de mortalité des moustiques des différents gîtes et des témoins (Septembre 2010 à Janvier 2011).

<b>Lot des moustiques</b>	<b>Nombre gorgé</b>	<b>Mortalité</b>	<b>Taux de mortalité</b>
---------------------------	---------------------	------------------	--------------------------

<b>Gîte I</b>	549	360	65,6
<b>Gîte II</b>	536	348	64,9
<b>Gîte IV</b>	596	366	61,4
<b>Témoin</b>	774	430	55,6
<b>Total</b>	<b>2455</b>	<b>1504</b>	<b>61,3</b>

Le taux de mortalité moyen était de 61,3% compris entre 55,6% (Témoin) et 66,4% (gîte I). Ce taux n'a pas subi des variations statistiquement significatives ( $X^2 = 99,727$ ; ddl=90 ; P = 0,23).

### 3- Etude de la fréquence d'*An. Arabiensis* et d'*An. gambiae s.s* en fonction des gîtes larvaires.

**Tableau VIII:** Proportion d'*An. Arabiensis* et d'*An. gambiae s.s* en fonction des gîtes larvaires de Nanguilabougou (Septembre 2010 à Janvier 2011)

<i>An. gambiae s.l.</i>	<b>Gîte I</b>		<b>Gîte II</b>		<b>Gîte IV</b>		<b>Total</b>	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>An. gambiae s.s</i>	61	95	85	100	77	100	223	98,7
<i>An. arabiensis</i>	3	4,7	0	0	0	0	3	1,3
<b>Total</b>	<b>64</b>	<b>100</b>	<b>85</b>	<b>100</b>	<b>77</b>	<b>100</b>	<b>226</b>	<b>100</b>

L'interprétation de ce tableau montre que la proportion d'*An. arabiensis* est relativement très faible (N=3) par rapport à *An. gambiae s.s*. Par ailleurs l'*An. arabiensis* et les formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* étaient en sympatrie dans le gîte larvaire I, *An. arabiensis* était absent dans les gîtes larvaires II et IV.

Cette différence de proportion est statistiquement significative ( $X^2=965,02$  ; ddl=12; P=0,0001).

**Tableau IX:** Proportion des formes moléculaires M et S en fonction des gîtes larvaires de Nanguilabougou (Septembre 2010 à Janvier 2011) après la PCR.

<i>An. gambiae s.s.</i>	<b>Gîte I</b>		<b>Gîte II</b>		<b>Gîte IV</b>		<b>Total</b>	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>Forme Moléculaire M</b>	57	93,4	80	94,1	75	97,4	212	95,1
<b>Forme Moléculaire S</b>	4	6,6	5	5,9	2	2,6	11	4,9
<b>Total</b>	<b>61</b>	<b>100</b>	<b>85</b>	<b>100</b>	<b>77</b>	<b>100</b>	<b>223</b>	<b>100</b>

L'interprétation de ce tableau montre que la forme moléculaire S (N=11) était très faible par rapport à la forme moléculaire M (212). La prédominance de la forme moléculaire M est statistiquement significative dans chaque gîte et entre les différents types de gîtes ( $X^2=967,10$  ; ddl=15;  $P=0,0001$ ).

#### 4- Etude des taux d'infection en oocystes d'*An. gambiae s.l.* des différents gîtes larvaires et de laboratoire

##### 4.1- Comparaison des taux d'infection d'*An. gambiae s.l.* en fonction des gîtes larvaires et la colonie de laboratoire

**Tableau X** : Comparaison des taux d'infection des moustiques issus des gîtes larvaires à celui des témoins.

<i>An. Gambiae s.l</i>	Total disséqué	Positifs	
		Effectifs	Pourcentage
Moustiques des gîtes	614	17	2,8
Témoin	331	18	5,4
<b>Total</b>	<b>945</b>	<b>35</b>	<b>3,7</b>

Ce tableau compare le taux d'infection des moustiques des 3 gîtes regroupés à celui des témoins. Le taux d'infection des témoins (5,4%) était supérieur à celui des moustiques des gîtes (2,8%). Cette différence observée était statistiquement significative ( $X^2=4,29$  ; ddl=1 ;  $P=0,03$ ).

**Tableau XI** : Comparaison des taux d'infection des moustiques des différents gîtes larvaires

Moustiques des gîtes	Total disséqué	Positifs	
		Effectifs	Pourcentage
Gîte I	182	3	1,6
Gîte II	208	8	3,8
Gîte IV	224	6	2,7
<b>Total</b>	<b>614</b>	<b>17</b>	<b>2,8</b>



Ce tableau nous montre la comparaison des taux d'infection entre les moustiques des différents gîtes larvaires. La différence entre les taux d'infection des différents gîtes n'est pas statistiquement significative ( $X^2=1,75$  ; ddl=2 ; P=0,41).

#### 4.2- Etude des variations périodique des taux d'infection d'*An. gambiae s.l* collectés dans les différents gîtes laboratoires et des témoins.

**Tableau XII :** Variations des taux d'infections en oocystes d'*An. gambiae s.l* par passage après l'infection sur membrane.

Passage	Total disséqué	Positifs	
		Effectifs	Pourcentage
30-septembre	41	4	9,8
15-octobre	80	9	11,3
31-octobre	99	0	0
15-novembre	94	0	0
30-novembre	195	9	4,6
21-décembre	99	4	4
23-janvier	337	9	2,7
<b>Total</b>	<b>945</b>	<b>35</b>	<b>3,7</b>

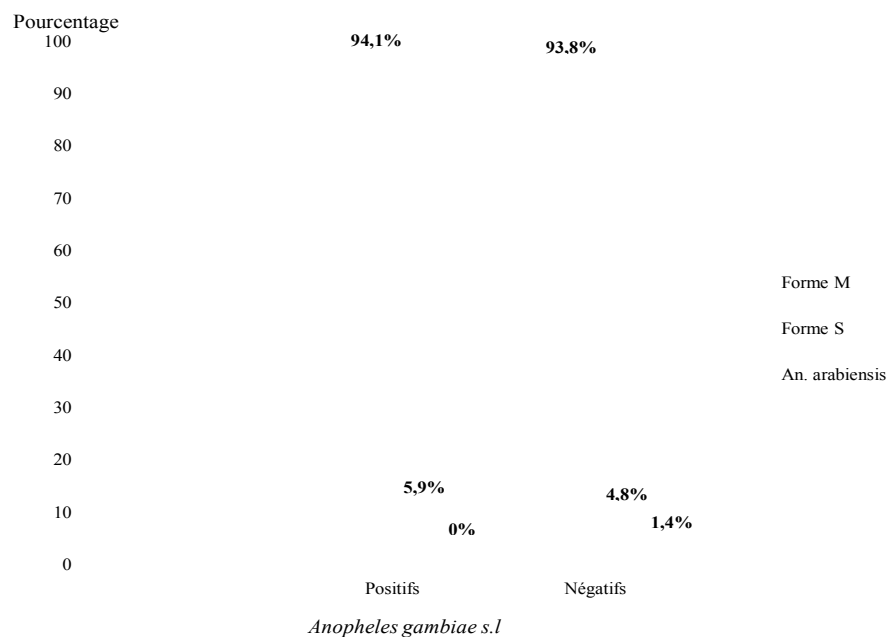
Ce tableau nous montre le nombre de moustiques infectés en oocystes par séance d'infestation. De Septembre 2010 à Janvier 2011 nous avons disséqué 945 moustiques. Sur les 945 disséqués, nous avons eu 35 infections, soit une moyenne de 3,7% de moustiques infectés par passage. Le taux d'infection maximum, 11,3% a été observé au cours du passage 2. Le taux moyen avait subit des variations statistiques significatives ( $X^2 = 25,90$  ; ddl=6 ; P =0,0001).

#### 4.3- Comparaison des taux d'infection en oocyste des formes moléculaires d'*An gambiae s.s* aux taux d'infection d'*An. arabiensis* à Nanguilabougou

**Tableau XIII:** Comparaison des taux d'infection des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* et d'*An. arabiensis* (Septembre 2010 à Janvier 2011).

<i>An.gambiae s.l</i>	Effectifs	Positifs		Négatifs	
		N	%	N	%
Forme M	212	16	94,1	196	93,8
Forme S	11	1	5,9	10	4,8
<i>An. arabiensis</i>	3	0	0	3	1,4
<b>Total</b>	<b>226</b>	<b>17</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>

L'analyse de ce tableau et de la figure 11 ont montré qu'il existe une différence statistique significative entre les taux d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S ( $X^2=37,67$ ; ddl=5 ; p=0,0001).



**Figure 12 :** Variations des taux d'infections en oocystes d'*An. arabiensis* et les formes moléculaires d'*An. gambiae s.l*

#### 4.4- Etude des taux d'infection plasmodiale en fonction des populations bactériennes

**Tableau XIV:** Etude de la relation entre l'examen bactériologique et l'infection plasmodiale des carcasses après dissection.

Bactéries	Carcasses			
	Absence d'oocyste		Présence d'oocyste	
	N	%	N	%
<i>Aeromonas, K. oxytoca</i>	7	41,2	3	17,6
<i>E. coli, Salmonella</i>	5	29,4	8	47,1

Shigelles, <i>Staphylocoques</i>	5	29,4	6	35,3
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>100</b>	<b>17</b>	<b>100</b>

Ce tableau nous montre les bactéries retrouvées sur les carcasses de 17 moustiques positifs en oocyste comparés à 17 moustiques négatifs après dissection.

En effet *E. coli* et *Salmonella* étaient retrouvés sur la majorité des moustiques positifs (47,1%) contre 17,6% pour *Aeromonas* et *K. oxytoca* retrouvés chez les moustiques positifs.

Cette différence n'est pas statistiquement significative du fait de la petite taille de l'échantillon analysé ( $X^2=2,38$ , ddl=2, P=0,30).

**Tableau XV** : Variation de taux d'infection à *P. falciparum* en fonction de la flore bactérienne, retrouvée dans l'échantillon d'eau, des larves et les adultes des différents gîtes larvaires.

Bactéries	Moustiques disséqués				Total	
	Présence d'oocyste		Absence d'oocyste			
	N	%	N	%	N	%
<i>Aeromonas, K. oxytoca, Proteus, Pseudomonas, Staphylocoques, Shigella</i>	3	1,6	179	98,4	182	100
<i>E. coli, Salmonella, Staphylocoques</i>	8	3,9	200	96,1	208	100
<i>E. coli, P. morganis, Staphylocoques</i>	6	2,7	218	97,3	214	100

L'interprétation de ce tableau montre que le groupe bactérien (*Aeromonas, K. oxytoca, Proteus, Pseudomonas, Staphylococcus, Shigella*) semble avoir une influence négative sur l'infectivité des moustiques, tandis que le groupe bactérien (*E.coli, Salmonella, Staphylococcus*) paraît avoir un effet favorisant l'infection plasmodiale. Cette différence n'est pas significative ( $X^2=5,61$  ; ddl=3 ; p=0,13).

## 5-Comparaison de la charge oocystique des moustiques des gîtes et des témoins de laboratoire

## 5.1- Fréquence des charges oocystiques des moustiques issus des gîtes et des témoins

**Tableau XVI** : Comparaison des classes de charges oocystiques observée chez *An. gambiae s.l.* après la dissection de septembre 2010 à janvier 2011.

Nombre d'oocystes	N	% Moustique infecté	Source de moustique
1-10	32	91,4	GI, GII, GIV, Témoin
11-20	1	2,9	Témoin
>20	2	5,7	Témoin
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100</b>	

Ce tableau nous montre la distribution de la charge oocystique observée chez les moustiques infectés. En effet 91,4 % des moustiques infectés avec *P. falciparum* avaient une charge oocystique comprise entre 1-10 ; 2,9 % des moustiques infectés avaient une charge oocystique comprise entre 11-20 et 5,7% des moustiques infectés avaient une charge oocystique supérieure à 20.

La charge oocystique maximale des moustiques des gîtes était 6 tandis que la charge maximale de témoin était 26. Les classes des charges 11-20 et > 20 sont observées uniquement chez les témoins.

## 5.2-Comparaison des charges oocystiques des moustiques des gîtes et celles des témoins.

Cette comparaison a été faite à partir des moyennes géométriques des nombres d'oocystes observés chez les anophèles retrouvés positifs.

**Tableau XVII:** Moyenne géométrique des charges oocystiques chez *An. gambiae s.l.* issus des différents gîtes et des témoins de septembre 2010 à janvier 2011.

Charge oocystique	Effectif	Moyenne géométrique	Variance
Gîte I	3	1	60,771
Gîte II	6	1,88	0,0001
Gîte IV	8	1,50	2,982
Témoin	18	5,78	0,700
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>3,74</b>	<b>35,66</b>

La moyenne géométrique globale des charges oocystiques pour tous les échantillons cumulés était de 3,74 oocystes par moustique infecté. Cette moyenne a variée de 1 oocyste ( $n = 3$ ) pour les moustiques de gîtes I, à 5,75 oocystes pour les moustiques témoins. Cependant, nous n'avons pas observé de différence statistique significative entre les moyennes géométriques des charges oocystiques des moustiques des différents gîtes et des témoins de laboratoire ( $F = 1,517$ ;  $ddl = 3$  ;  $P = 0,230$ ) selon le test d'ANOVA.



## **VI- COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS**

Ce protocole a reçu l'approbation du comité d'éthique de la Faculté de Médecine, Pharmacie et d'Odontostomatologie. Les résultats des études antérieures menées à Nanguilabougou, les étroites relations du laboratoire avec les notabilités et la population du village et sa situation par rapport à Bamako ont fait de ce village un bon choix pour cette étude. Grâce à cette proximité du village avec Bamako où s'effectuent les séances d'infestation, les collectes de larves d'*An. gambiae s.l* sauvages étaient organisées bien avant le jour des infestations et l'insectarium a permis d'une part le suivi des larves collectées sur le terrain jusqu'à leur émergences et d'autre part le maintien de la colonie M (moustique d'élevage correspondant au témoin). L'élevage de la colonie M à l'insectarium et des nombreux passages de collecte des larves d'*An. gambiae s.l* ont permis d'éviter le manque d'anophèles pour les infestations expérimentales.

### **1- Caractérisation des différents gîtes larvaires d'*An. gambiae s.l.* et des porteurs de gamétocytes à Nanguilabougou**

Nous avons constaté que les bactéries présentes chez les moustiques adultes, ont été retrouvées chez la larve ainsi que dans l'eau des gîtes. On peut donc suggérer que les larves et les adultes des moustiques étaient infectés par les bactéries des gîtes larvaires. D'autres bactéries présentes dans l'eau des gîtes étaient cependant absentes chez les larves et les adultes des moustiques.

Les staphylocoques ont été retrouvés dans l'eau de tous les gîtes larvaires, *Aeromonas*, *K. oxytoca*, *Shigella*, *Pseudomonas* ont été rencontrés seulement dans l'eau de gîte I. Les Salmonelles ont été identifiées uniquement dans l'eau de gîte II, *C. freundii* était propre à l'eau de gîte III, qui manquait des larves d'*An. gambiae*.

Pour les larves, *K. oxytoca*, *Shigella* ont été identifiés uniquement sur les larves du gîte larvaire I. Chez les adultes des moustiques, *Aeromonas*, *K. oxytoca*, *Shigella* ont été retrouvés seulement chez les moustiques adultes du gîte larvaire I.

La température la plus élevée (33°C) a été observée dans le gîte larvaire IV au cours de notre premier passage et la plus basse (24) dans le gîte larvaire III lors du dernier passage. Il n'existe pas de différence statistique significative de la température entre les gîtes ( $P = 0,09$ ), de ce fait nous pensons que la température ne pourra plus influencer l'infectivité des moustiques d'un gîte larvaire par rapport aux autres.

Le pH des différents gîtes larvaires a oscillé entre un pH neutre et acide très faible. Le pH de l'eau de gîte larvaire I était acide pendant toute la période de l'expérimentation, tandis que celui du gîte larvaire III était neutre. Cette différence observée entre l'eau des différents gîtes larvaires a varié de façon significative ( $P = 0,016$ ).

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

Le choix de la tranche d'âge de 4 à 12 ans est basé sur les résultats des études antérieures menées dans la zone (Bancoumana) en 1994 qui ont montré que les porteurs de gamétocytes de cette tranche infectaient mieux les moustiques par rapport à ceux d'âge supérieur à 18 ans (Touré et al, 1996). La moyenne d'âge des porteurs de notre étude était de 7 ans et la tranche d'âge (4 à 12 ans) indiquée comme infectant le mieux les moustiques. Ce résultat était comparable à celui obtenu par Sacko, 2008 à Kénioroba qui a trouvé une moyenne d'âge de 7 ans pour les porteurs de gamétocytes de tranche d'âge de 4 à 18 ans pour l'infestation expérimentale. L'indice gamétocytaire mensuel moyen était de 11,8%. Ce résultat est légèrement supérieur à celui observé par Sacko, 2008 à Kénioroba (10,6%).

## **2- Etude des taux d'engorgement et des taux de mortalité des moustiques des moustiques des gîtes et des témoins**

Au total, 880 d'*An. gambiae s.l* pour chaque gîte et de témoin ont été exposés au sang des porteurs de gamétocytes. Le taux d'engorgement moyen pour l'ensemble des moustiques des gîtes et le témoin était de 69,7% (Tableau VI). Le taux d'engorgement du témoin (88%) était supérieur aux autres échantillons de moustiques (GI=62,4% ; GII=60,9% ; GIV=67,7%). Il n'existe pas une différence statistique significative des taux d'engorgement entre les moustiques des différents gîtes et des témoins ( $X^2 = 106,90$  ;  $P = 0,15$ ). Ce résultat est supérieur à celui obtenu par Diallo en 1999 à Bancoumana. Il avait obtenu un taux d'engorgement de 54,1% après l'infestation sur membrane.

Le taux de mortalité moyen pour l'ensemble des moustiques des gîtes et le témoin était de 61,3%. Le taux de mortalité des moustiques de gîte larvaire I (66,4%) était légèrement supérieur à celui des autres moustiques des gîtes et des témoins (G2=64,9% ; G4=61,4% ; T=55,6%). Il n'existe pas une différence statistique significative des taux de mortalité des moustiques selon leur source de provenance ( $X^2 = 99,7$ ;  $P = 0,22$ ).

Ce résultat concorde avec celui de Jadin (1967), qui avait trouvé que les *Klebsiella* étaient capable de nuire à la vie des anophèles. L'examen bactériologique de notre échantillon d'eau, larve et adulte de moustique de gîte larvaire I a prouvé la présence abondante de *Klebsiella*.

Le fort taux d'engorgement et le faible taux de mortalité des témoins par rapport aux moustiques des gîtes s'expliqueraient par le fait que les moustiques des gîtes ne sont pas habitués aux conditions de l'insectarium.

## **3- Détermination de la fréquence d'*An. Arabiensis* et d'*An. gambiae s.s* en fonction des gîtes larvaires.**

Sur 226 moustiques identifiés après la dissection seulement 1,3% (N=3) représentait *An. arabiensis* et le reste 98,7% (N=223) les formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* (Tableau VIII). Il existe une différence statistique significative entre la fréquence d'*An. gambiae s.s* et d'*An. arabiensis* ( $X^2=965,02$  ;  $ddl=12$ ;  $P=0,0001$ ).

Ce résultat est comparable à celui obtenu par Keïta, en 2009 à Kénioroba, il a eu 96,9% d'*An. gambiae s.s* et 3,1% d'*An. arabiensis*, après collecte des larves, des captures sur sujet humain à l'intérieur et à l'extérieur des habitations humaines et des ``spray-catch``



En essayant de faire une comparaison entre *An. gambiae s.s* et *An. Arabiensis* en fonction des gîtes larvaires, nous avons observé qu'*An. gambiae s.s* et *An. arabiensis* étaient en sympatrie dans le gîte larvaire I. Par contre *An. arabiensis* était absent dans les autres gîtes larvaires.

La forme moléculaire M (N=212) prédominait par rapport à la forme moléculaire S (N=11). Cette prédominance de M était observée dans tous les gîtes larvaires(P=0,0001).

La prédominance de la forme moléculaire M par rapport à S et *An. arabiensis* s'explique d'une part par le fait que nos gîtes étaient de grandes étendues(les gîtes préférentiels de forme S, sont des petits gîtes temporaires), d'autre part par le lessivage des gîtes par la forte Pluie, observée dans la zone d'étude au moment des collectes des larves.

Les zones arides étaient inondées par la forte pluviométrie au moment de l'étude.

#### **4- Etude des taux d'infection en oocystes d'*An. gambiae s.l* issus des différents gîtes larvaires et de la colonie M de laboratoire.**

Nous avons disséqué 945 moustiques des gîtes et des témoins au cours de nos différentes séances d'infestations. Sur les 945 disséqués, nous avons eu 35 moustiques infectés d'oocystes, soit un taux moyen d'infection de 3,7% moustiques infectés d'oocystes.

Ce résultat était inférieur à celui obtenu par Bernard, al qui ont trouvé 10,4% et 5,3% après avoir élevé les larves dans l'eau contenant respectivement la terre argileuse et sableuse.

Le taux d'infection des moustiques issus des larves collectées sur les gîtes (17 positifs sur 614 disséqués) était inférieur au taux d'infection du témoin de laboratoire (18 positifs sur 331 disséqués). La différence est statistiquement significatives( $X^2=4,29$  ; ddl=1 ; P=0,03). Ceci s'explique par le fait que les témoins étaient habitués aux conditions

de l'insectarium(les témoins avaient un fort taux d'engorgement et un faible taux de mortalité par rapport aux moustiques des gîtes).

Le taux d'infection n'a pas varié de façon significative d'un gîte à l'autre ( $P=0,41$ ), même si ce taux était légèrement élevé dans le gîte larvaire II ( $N=8$ ) comparé au gîte larvaire I ( $N=3$ ).

Entre les GI, GII, GIV et les témoins, il n'existe pas une différence statistique significative du taux d'infection des moustiques ( $P = 0,13$ ).

Le taux d'infection avait varié de façon statistiquement significative d'un passage d'infestation à l'autre. Le taux d'infection maximum fut observé au 2<sup>ème</sup> Passage (11,3%).

Les faibles niveaux d'infections et des charges oocystiques observés au cours de l'infection à *P. falciparum* seraient liés au fait que la majorité des échantillons de moustiques était des moustiques du terrain(Le taux d'infection de témoin était supérieur au taux d'infection des moustiques de gîte respectivement 5,4% et 2,8%).

Parmi les moustiques positifs en oocyste issus des gîtes, 94,1% ( $N=16$ ) représentait la forme moléculaire M, 5,9% ( $N=1$ ) la forme moléculaire S. Nous n'avons pas eu d'*An. arabiensis* infecté (voir tableau XIII et figure 12). Cette différence d'infection observée entre les formes moléculaires M, S et *An. arabiensis* était statistiquement significative ( $p=0,0001$ ).

L'examen bactériologique des carcasses des moustiques a révélé que les bactéries *E. coli* et *Salmonella* étaient fréquemment retrouvées chez les moustiques infectés de *P. falciparum*. Les bactéries *Aeromonas* et *Klebsiella* étaient présents en une proportion élevée chez les moustiques négatifs en oocyste. Jadin (1967), avait constaté que les *Klebsiella* empêchaient la sporogonie. La taille notre échantillons des carcasses des moustiques positifs nous a pas permit d'avoir de différence significative.

### **5- Comparaison de la charge oocystique des moustiques des gîtes et des témoins**

Nous avons constaté que la majorité des moustiques positifs à *P. falciparum* avait une charge oocystique situé dans la classe 1-10. Les charges des moustiques gîtes étaient inférieures à 10. Les classes des charges 11-20 et >20 étaient constituées uniquement des témoins (colonie de laboratoire).

La comparaison a été faite à partir des moyennes géométriques des nombres d'oocystes observés chez les anophèles retrouvés infectés avec *P. falciparum*.

Nous n'avons pas observé de différence statistique significative entre les charges en oocystes des différents échantillons de moustiques issus des gîtes et des témoins. La

moyenne géométrique de l'ensemble des échantillons des moustiques était de 3,7 oocystes par moustique infecté ( $F = 1,517$ ;  $P = 0,230$ ).

Cette moyenne a varié d'un oocyste par moustique infecté ( $n = 3$ ) pour les moustiques de gîtes I, à 5,75 oocystes par moustique infecté chez les moustiques témoins.



## VII- CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Les résultats de ces expériences suggèrent que :

- La flore bactérienne n'a pas suffisamment varié d'un gîte larvaire à l'autre (la même souche bactérienne a été souvent retrouvée dans plusieurs gîtes). La transmission du paludisme était intense de septembre à janvier. Les gîtes ont été très productifs en larve d'*An. gambiae s.l* à l'exception de gîte larvaire III.
- Le taux d'engorgement et le taux de mortalité d'*An. gambiae s.l* n'ont pas varié significativement en fonction des gîtes larvaires et par conséquent n'ont pas varié en fonction des bactéries des gîtes larvaires.
- Qu'*An. gambiae s.s* est le vecteur fréquemment rencontré à Nanguilabougou. La forme moléculaire M est prédominante dans tous les gîtes larvaires, elle est responsable de la majorité de cas de paludisme à Nanguilabougou.
- L'infection n'a pas varié d'un gîte à l'autre, cependant elle était plus élevée chez les témoins que chez l'ensemble des moustiques des gîtes.

Il semble avoir une relation entre le nombre d'espèce bactérienne et l'infectivité des moustiques (le faible taux d'infection a été observé dans le gîte qui a le nombre élevé d'espèce bactérienne).

La charge oocystique n'a pas varié en fonction des gîtes larvaires au cours de nos expérimentations, mais elle était légèrement élevée chez les moustiques témoins de laboratoire que chez les moustiques des différents gîtes larvaires.

De ces résultats nous recommandons :

- Au ministère de la recherche de financer et d'encourager de telles études qui pourront avoir une contribution de taille sur l'influence de l'écologie des vecteurs sur leur infectivité.
- Aux chercheurs de continuer ces études en utilisant les moustiques issus des larves d'*An. gambiae s.l* élevées dans l'eau contenant les espèces bactériennes fréquemment rencontrées dans la nature de façon isolée.



## VIII- BIBLIOGRAPHIE

- 1- Bernard A.O; Louis C.G ; Guiyun Y ; John I.G ; John C.B : - Larval habitats of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) influences vector competence to *Plasmodium falciparum* parasites ; *Malaria Journal* 2007, 6-50
- 2- Billingsley P.F ; Hecker H : -Blood digestion in the mosquito, *Anopheles stephensi*: activity and distribution of trypsin, aminopeptidase and alpha-glucosidase in the midgut. *J Med Entomol* 1991, 28, 865-871.
- 3- Billingsley P.F ; Rudin W : -The role of the mosquito peritrophic membrane in bloodmeal digestion and infectivity of *Plasmodium* species. *J Parasitol*, 1992, 78, 430-40.
- 4- Bronner U ; Paul C.S.D ; Anna F and Balbir S : -Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* after visiting Malaysian Borneo. *Malaria Journal*. 2009: 8: 15.

- 5- Brooke B.D; Kloke G; Hunt R.H; Koekermor L.L; Temu E.A; Taylor M.E; Small G; Hemingway J; Coetzee M: -Bioassay and biochemical analyses of insecticide resistance in southern Africa *Anopheles funestus* (Diptera: Culcidae). *Bull Entomol Res* 2001, 91:265-273.
- 6- Chandre F. D.F ; Manga L ; Akogbeto M ; Faye O ; Mouchet J ; Guillet P : -Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensu lato*. *Bull World Health Organ* 1999, 77: 230-234.
- 7- Collins F. H; Sakai R. K; Vernick K. D; Paskewitz S; Seeley D. C; Miller L. H; Collins W. E; Campbell C. C. and Gwadz R. W : - Genetic selection of a *Plasmodium*-refractory strain of the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Science*, 1986, 234: 607-10.
- 8- Chris M.C ; Yuemei D ; April M.C ; Clayton, Simone L.S ; Jayme A.SN ; Musapa M ; George Dimopoulos : -Natural microbe-mediated refractoriness to *Plasmodium* infection in *Anopheles gambiae*. *Science* 2011, 332, 6031-852.
- 9- Della Torre A ; Zhijian T ; Vincenzo P : -On the distribution and genetic differentiation of *Anopheles gambiae* s.s molecular forms. *Insect biochemistry and molecular E*, 2005, 35, 755-769
- 10- Diallo M : -Paramètres épidémiologiques de la transmission de *Plasmodium falciparum* dans le village de Bancoumana ; pouvoir infectieux des porteurs de gamétocytes pour la préparation de sites d'essais vaccinaux bloquant la transmission. *Thèse de Doctorat, Spécialité Parasitologie et Entomologie Médicale* ; FMPOS ; 2001.
- 11- Fanello C ; Santolamazza F ; Della Torre, A : -Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Med Vet Entomol*, 2002. 16(4): p. 461-4.
- 12- Favia G, Lanfrancotti A ; Spanos L ; Siden-Kiamos I ; Louis C : - Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol Biol*, 2001. 10(1): p. 19-23.
- 13- Fontenille D et coll : -Vecteurs du paludisme : du terrain à la génétique moléculaire, recherches en Afrique. *Rev epidemiol santé publique* 2005, 53: 283-290

- 14- Gass R.F ; Yeates R.A : -*In vitro* damage of cultured ookinete of *Plasmodium gallinaceum* by digestive proteinases from susceptible *Aedes aegypti*. *Acta Trop*, 1979, 36, 243-252.
- 15- Gass R.F : -Influences of blood digestion on the development of *Plasmodium gallinaceum* in the midgut of *Aedes aegypti*. *Acta Trop*, 1977, 34, 127-140.
- 16- Gentilini, M : -Médecine tropicale, 5ème édition. *Flammarion, France*. 1993.
- 17- Gillies M.T ; De Meillon B : – The *Anophelinae* of Africa south of the Sahara. *Pub. South Afr. Inst. Med. Res*, 1968, 54, 343 p.
- 18- Graves P.M; Burkot T.R; Cattani J.A; Lagog M; Parker J; Gibson F.D; Bradley D.J; Alpers M.P : -Measurement of malaria infectivity of human population to mosquitoes in the Madang area, Papua New Guinea, *Parasitology*, 1988, 96 : 251-263
- 19- Grotendorst C.A ; Carter R : -Complement effects on the infectivity of *Plasmodium gallinaceum* to *Aedes aegypti* mosquitoes. II) Changes in sensitivity to complement like factors during zygote development. *J Parasitol*, 1987, 73, 980-984.
- 20- Guerin P.J; Olliaro P; Nosten F; Laxminarayan R; Binka ; Kilama W.L; Ford N; White N.J. Malaria: current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. *Lancet Infect Dis* 2002, 2:564-573.
- 21- Holstein M : – *Guide pratique de l'anophélisme en A.O.F.* Dakar, Direction générale de la Santé publique. 1949, 55 p.
- 22- Huber M ; Cabib E ; Miller L.H : -Malaria parasite chitinase and penetration of the mosquito peritrophic membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88, 2807-2810.
- 23- Jadin J –Du rôle des bactéries dans le tube digestif des insectes vecteurs des plasmodidae et des trypanosomes. *Ann. Soc. Belge Med. Trop* 1967. 47, 4, 331, 342.
- 24- Keïta. M : -Transmission vectorielle du paludisme dans un village riverain du fleuve Niger: Kenieroba. *Mémoire FAST* 2009, Bamako, Mali
- 25- Koita O : -Epidémiologie du paludisme le long de la route trans-saharienne du Mali. Thèse de pharmacie 1988, Bamako, Mali
- 26- Kumar N ; Carter R : -Biosynthesis of 2 stage specific membrane proteins during transformation of *Plasmodium gallinaceum* zygotes in to Ookinetes. *Mol Biochem Parasitol*, 1985, 14,127-139.
- 27- Lengeler R.C : -Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria. *Cochrane Database Syst Rev*, 2004(2): p. CD000363



- 28- Langer R.C ; Vinetz J.M : -*Plasmodium* ookinete-secreted chitinase and parasite penetration of the mosquito peritrophic matrix. *Trends Parasitol*, 2001, 17, 269-272.
- 29- Mendis C ; Gamage-Mendis A.C ; De Zoysa A.P.K ; Abhayawardena T.A ; Carter R ; Mendis K.N : -Characteristic of malaria transmission in Kataragama, Sri-lanka: a focus for immune-epidemiological studies. *Am J Trop. Med. Hyg.* 1990, 42 : 298-308
- 30- Mme Amadou Hadiza K. Soumaila : -Etude de la transmission naturelle des plasmodies humaines par les membres d'*Anophèles gambiae s.l* dans une zone soudanienne du Mali :Bancoumana, préfecture de Kati.
- 31- Monnerat A.T ; Soares M.J ; Lima J.B.P ; Rosa-Freitas M.G ; Valle D : -*Anopheles albitarsis* eggs: ultrastructural analysis of chorion layers after permeabilization. *Journal of Insect Physiology*.1999, 28, 1-8.
- 32- Mouchet J. and Camevale P : -Les vecteurs et la transmission, in *Paludisme*, ELLIPSE/AUPELF, Editor. 1991
- 33- Muirhead-Thomson R.C: -**The malarial infectivity of an African village population to mosquitoes (*Anopheles gambiae*): a random xenodiagnostic survey.** *Am J Trop Med Hyg* 1957, 6, 971-979.
- 34- Mulder B; Tchuinkam T; Robert V; Verhave J.P; Carnavale P; Meuwissen H.E.T; Cot M.; Dechering K; Stoffels H : -Experimental infections of *Anopheles gambiae* with *Plasmodium falciparum* of naturally infected gametocyte carriers in Cameroon: factors influencing the infectivity to mosquitoes. *Trop. Med. Parasitol.* 44 (1993) 271-276.
- 35- OMS, 2011 : -Rapport 2011 sur le paludisme dans le monde (WHO, Global Malaria Programme).
- 36- OMS: -Directives OMS pour le traitement du paludisme ; WHO/HTM/MAL/2006.1108.
- 37- OMS : -Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs, 2003.
- 38- OMS, 1999 : -**La lutte antivectorielle, méthode à usage individuel et communautaire.** *Catalogue à la source : bibliothèque de l'OMS*, p.34- 57.

- 39- OMS, 1995 : **-Lutte contre les vecteurs du paludisme et autres maladies transmissibles par les moustiques.** *Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS, Genève, ser, de rapp. Techn. n°857, 20-30.*
- 40- OMS, 1991 : **-Séminaire inter pays sur la lutte antivectorielle dans les zones de paludisme instable,** Bujumbura, et Addis-Abeba, 20p.
- 41- Paskewitz S.M; Brown M.R; Lea A.O. and Collins F.H : -Ultrastructure of the encapsulation of *Plasmodium cynomologi* (B strain) on the midgut of a refractory strain of *Anopheles gambiae*. *J Parasitol*, 1988. 74: 432-9.
- 42- Piron E : -Communication personnelle.
- 43- PNLP-MALI, INFO-STAT et ICF Macro. 2010: - Enquête sur la prévalence de l'Anémie et de la Parasitémie palustre chez les enfants (EA&P) au Mali 2010. *Calverton, Maryland, USA : CPS/DNSI et ICF Macro.*
- 44- Richards A.G ; Richards P.A : -The peritrophic membrane of insect. *Annu Rev Entomol* 1977, 22, 219-240.
- 45- Rodhain F ;Perez C : *-Précis d'entomologie médicale et vétérinaire*, ed. Maloine. 1985, Paris.
- 46- Russell P.F; West L.S; Manwell R.D; Macdonald G., 1963 : *-Practical malariology*. 2nd edition, London, Oxford Univ Press.
- 47- Sacko M : -Etude de l'infectivité de *Plasmodium berghei* et *plasmodium falciparum* chez *Anophèles gambiae s.s.* 2008, Thèse Med. Bamako, Mali.
- 48- Shahabuddin M; Lemos F.J.A; Kaslow D.C ; Jacobs Lorena M : -Antibody mediated inhibition of *Aedes aegypti* midgut trypsins blocks sporogonic development of *Plasmodium gallinaceum*. *Infect Immunol*, 1996, 64, 739-743.
- 49- Shahabuddin M; Toyoshima T; Aikawa M ; Kaslow D.C : -Transmission-blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malarial parasite chitinase by mosquito protease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90, 4266-4270.
- 50- Sites internet: [http://www.memoireonline.com/05/09/2057/m\\_Etude-de-quelques-aspects-epidemiologique-environnementaux-paludisme-senegal.html](http://www.memoireonline.com/05/09/2057/m_Etude-de-quelques-aspects-epidemiologique-environnementaux-paludisme-senegal.html)
- 51- Touré Y. T ; Doumbo O; Touré A; Bagayoko M ; Diallo M ; Dolo A ; Vernick K. D; Keister D. B; Muratova O ; Kaslow D. C : -Gametocyte infectivity by direct mosquito feeds in an area of seasonal malaria transmission: implications for Bancoumana, Mali as a transmission-blocking vaccine site. *Am J Trop Med Hyg.* 1998. 59: 481- 6.

- 52- Touré Y. T : -Génétique, écologie, et capacité vectorielle des membres du complexe *gambiae s.l* au Mali. Thèse es science Aix-marseille III, 1985
- 53- Touré Y. T, 1979 : -Bioécologie des anophèles (Diptera, Culidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali, Banambani et incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft. Thèse 3<sup>ème</sup> cycle en biologie animale, option entomologie, Centre Pédagogique Supérieur, Bamako, Mali.
- 54- Vernick K. D; Fujioka H; Seeley D.C; Tandler B; Aikawa M: and Miller L.H :  
-*Plasmodium gallinaceum*: a refractory mechanism of ookinete killing in the mosquito, *Anopheles gambiae*. *Exp Parasitol* 1995. 80: 583-95.
- 55- Wonson M ; Wolfs I et Lebied B : -Comptement d'*Anopheles(Myzomyia) Moucheti* Evans. Rec. Trav. Soc. Med. Congo Belge, 1947, 6, 39.
- 56- Yeates R.A ; Steiger S : -Ultrastructural damage of *in vitro* cultured Ookinetes of *Plasmodium gallinaceum* (Brumpt) by purified proteinases of susceptible *Aedes aegypti*. *Z Parasitenkd*, 1981, 66, 93-97.
- 57- Zakharova N : - Méthodologie moderne de la lutte génétique contre les moustiques: lutte antivectorielle et la protection de l'environnement. Edition Mir, Tome 2, 1983, p.161-175.



**Nom:** Traoré

**Prénom:** Alou Guimba

**Titre:** Etude de l'infectivité des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* chez *Anophèles gambiae s.l* issus de différents types de gîtes larvaires en zone d'endémie palustre de Nanguilabougou.

**Année de soutenance:** 2012

**Ville de soutenance:** Bamako

**Pays d'origine:** Mali

**Lieu de dépôt:** Bibliothèque de la FMPOS

**Secteur d'intérêt :** Entomologie et Parasitologie médicales

**Résumé :** De septembre 2010 à janvier 2011 nous avons conduit une étude d'infestation expérimentale dans un village de la savane sud soudanienne du Mali. Ce travail consistait à

d'étudier l'impact des différents gîtes larvaires sur l'infectivité des gamétocytes de *P. falciparum* chez *An. gambiae s.l* par la technique d'infestation sur membrane.

Des passages transversaux ont été organisés pour la collecte des larves et la sélection des porteurs de gamétocytes. L'indice gamétocytaire établi chez les enfants âgés de 4 à 12 ans était 11,8% faisant Nanguilabougou une zone d'endémie palustre. Différents types de bactéries ont été identifiés dans l'eau des gîtes, sur les larves et adultes des moustiques.

Les larves collectées à Nanguilabougou au stade L3 et L4 étaient conduites dans l'insectarium, après l'émergence les femelles ont été utilisées pour l'expérimentation. Les collectes de larves d'*An. gambiae s.l* dans un gîte géo référencié ont permis d'établir la colonie M forme d'*An. gambiae s.s* (utilisée comme témoin).

Les porteurs humains se sont révélés infectieux, 70% des porteurs ont infecté au moins un moustique.

Le taux d'infection des témoins était largement supérieur à celui des moustiques des gîtes larvaires ( $P < 0,05$ ). Par contre nous n'avons pas eu de différence quand au taux d'infection en oocystes entre les moustiques des différents gîtes larvaires. La charge oocystique des moustiques infectés n'avait pas varié en fonction des gîtes de façon significative. Le faible niveau d'infection a été observé dans le gîte et les moustiques contenant *K. oxytoca* et *shigella*.

Par ailleurs le taux d'infection en oocyste a considérablement varié en fonction de passage des collectes des larves ( $P = 0,0001$ ).

La forme moléculaire M (93,8%) dominait par rapport à la forme S (4,9%) et *An. arabiensis* (1,3%) pendant toute la période de l'étude et dans tous les gîtes larvaires ( $P = 0,0001$ ).

Il serait souhaitable que la présente étude puisse se poursuivre en utilisant les moustiques issus des larves d'*An. gambiae s.l* élevées dans l'eau contenant les espèces bactériennes fréquemment rencontrées dans la nature de façon isolée.

**Mots clé** : Infection expérimentale, gamétocytes, gîte larvaire, *An. gambiae s.l*, *P. falciparum*.

**First name:** Traoré

**Surname:** Alou Guimba

**Title:** Study of *Plasmodium falciparum* gametocytes to *Anopheles gambiae s.l* of different breeding sites in malaria-endemic area of Nanguilabougou.

**Date:** 2012

**City:** Bamako

**Country:** Mali

**Depository:** Library of Faculty of Medicine, Pharmacy and Odonto-stomatology

**Area of interest:** Medical Entomology and Parasitology

**Abstract:** From September 2010 to January 2011 we conducted an experimental study of infection in a village of southern Sudan savanna of Mali. The goal of this was to study the impact of the different breeding sites on the infectivity of *P. falciparum* gametocytes to *An.*

*gambiae s.l* using experimental of membrane feeding techniques.

Cross sectional surveys were organized for the collection of larvae and the selection of gametocyte carriers. The gametocytes index from children aged 4 to 12 years was 11.8% in Nanguilabougou making a malaria-endemic area. Different types of bacteria were identified in the water, on larvae and adult mosquitoes.

The larvae collected in Nanguilabougou were stage L3 and L4 they were then conducted in the insectary. After emergence females were used for experimental infection. The collected of *An. gambiae s.l* larvae have been used to establish the M form colony (used as a control).

The gametocytes carriers were infectious, 70% of the carriers have infected at least one mosquito.

The infection rate of controls was significantly higher than field collected mosquitoes ( $P < 0.05$ ). The oocyst load of infected mosquitoes did not vary significantly. The low level of *P. falciparum* infection was observed in mosquitoes containing *Klebsiella. oxytoca* and *shigella*.

Moreover, the oocyst infection rates varied considerably depending on the surveys period ( $P = 0.0001$ ).

The molecular form M (93.8%) dominated over the form S (4.9%) and arabiensis (1.3%) throughout the study period and from all visited breeding sites ( $P = 0.0001$ ).

It is hoped that this study can continue using the mosquitoes from larvae of *An. gambiae s.l* in water containing high bacterial species commonly found in nature in isolation.

Key words: Experimental infection, gametocytes, breeding site, *Anopheles gambiae s.l*, *Plasmodium falciparum*.



## **IX- ANNEXES**

### **1-Identification des espèces et des formes moléculaires par PCR**

La technique de Fanello *C et al* en 2002

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

- ❖ Utiliser un contrôle positif pour M, A, S et un contrôle négatif.
- ❖ Placer les tubes à  $-20^{\circ}$  et attendre à ce que la solution se congèle.
- ❖ **Programmer la machine (programmable thermal Controller) au cycle d'amplification et attendre  $94^{\circ}\text{C}$ . Introduire les micros tubes (0.2) contenant les réactifs nécessaires aux différentes réactions, puis lancer la machine.**
- ❖ Attendre à ce que la machine affiche sur l'écran FOR EVER ou  $4^{\circ}$ .
- ❖ Reprogrammer la machine à  $37^{\circ}\text{C}$  et ajouter  $0.65\mu\text{l}$  de l'enzyme de digestion Hha I et attendre 6 heures avant de les faire migrer à l'électrophorèse ou bien de les garder à  $4^{\circ}\text{C}$  pour une migration prochaine.

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

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales
PCR buffer(tampon)	10 X	1 X
dNTPs	10 mM	0.2 mM
Mgcl <sub>2</sub>	50 mM	2.5 mM
GA	20 ng/ $\mu\text{l}$	6.25 ng
AR	20 ng/ $\mu\text{l}$	18.75 ng
UN	20 ng/ $\mu\text{l}$	12.5 ng
Taq polymerase	5U / $\mu\text{l}$	0.9 U

### Cycle d'amplification

1.  $94^{\circ}\text{C}$  pendant 7mn
2.  $94^{\circ}\text{C}$  pendant 30 s
3.  $50^{\circ}\text{C}$  pendant 30 s
4.  $72^{\circ}\text{C}$  pendant 30 s
5.  $72^{\circ}\text{C}$  pendant 7mn
6.  $4^{\circ}\text{C}$  température de conservation des amplifiants

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



## 8.2 Séquence nucléotidique des différentes amorces pour l'identification des espèces et formes moléculaires

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

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

UN (universel) 5' -GTGTGCCCTTCCTCGATGT- 3'

## 8.3 Electrophorèse de L'ADN

### 8.3.1 Préparation du Gel et Interprétation des bandes

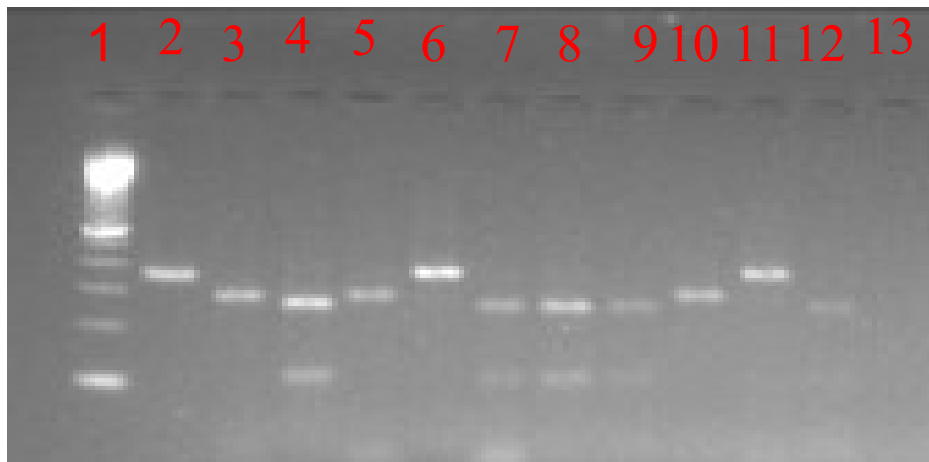
Nous avons préparé un gel d'agarose à 2% sur lequel 10µl d'ADN mélangés à 2µl de Dye (100ml d'H<sub>2</sub>O stérile + 46g de sucrose + 0.25g de bleu de bromophenol) ont été logés par puits.

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

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

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

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



**Figure 13:** identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.

**Légende**

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

## 2-Fiche d'identification et caractérisation des gîtes géo-référenciés

### Caractérisation physique et biologique des gîtes larvaires

I- Gites : N° : ..... /

1- GPS des gites : .....

2- Types de gites : a- Permanent : Oui ...../ Non ...../ b- Temporaire : Oui ...../ Non  
...../

C-Naturel : Oui..... / Non..... / d-Artificiel : Oui.... / Non...../

**3- Eau :**

- Stagnante : Oui...../ Non...../
- Mobile : Oui...../ Non ...../
- Trouble : Oui...../ Non...../
- Claire : Oui ...../ Non ...../

**4- Nature de la terre :**

- a- Rocheuse : Oui...../ Non ...../
- b- Latéritique : Oui.. / Non ...../
- c- Boue : Oui...../ Non.. /

**5- Eclairage :** Oui...../ Non ...../

**6- Dimensions des gites :**

- a- Longueur (cm): ...../
- b- Largeur (cm) : ...../
- c- Profondeur (cm) : ...../

**7- Ph :** ...../

**8- Température :** .....°C

**9- Faune bactérienne :** Oui ...../ Non ...../

Si oui, spécifiez : .....

**10- Végétation :**

- a- Herbes : Oui...../ Non ...../
- b- Buissons : Oui...../ Non...../
- c- Arbres : Oui...../ Non...../

**11- Production en larve :** Oui.../ Non...../

**III- Larves :**

- 1- Couleur : ...../
- 2- Stade de collection : I ...../ II ...../ III ...../ IV ...../

**IV-Identification des culicidés** .....

**3-Fiche de dissection des moustiques**

**FICHE DE DISSECTION DES MOUSTIQUES D'INFESTATION EXPERIMENTALE**

**FICHE DE DISSECTION DES MOUSTIQUES D'INFESTATION**

Localité : .....  
Date d'émergence : .....  
Date du repas de sang : .....  
Identification du moustique : .....  
N° du Groupe : .....

Date dissection : .....  
Identification du porteur : .....  
Charge gamétocytaire : .....  
Nombre de femelle non gorgées : .....  
Espèce/forme moléculaire: .....



- Aspirer chaque moustique individuellement pour mettre dans le tube eppendorf 1.5ml, ensuite fermer ;
- Mettre le tube eppendorf contenant du moustique dans le grand tube Falcon de 50 ml contenant du diethyl éther pendant 2 à 3 secondes ;
- Etaler le moustique anesthésié sur une lame porte objet sous la loupe binoculaire ;
- Couper une patte latérale au milieu et la mettre dans le tube PCR avec son numéro ;
- Chaque patte coupée prend le numéro d'identification de son moustique ;
- Ainsi les pattes coupées sont traitées à la PCR pour l'identification des formes moléculaires (M; A; S) ;
- Tous les moustiques identifiés de même formes sont mis ensemble dans la même cage ;
- Les formes ainsi obtenues seront maintenues dans les conditions de laboratoires pour séances d'infestation expérimentales.



## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

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

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

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

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

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

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

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

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

**Je le jure !**