

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et De La Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET
DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



U.S.T.T-B



FAPH

Année Scolaire 2024 – 2025

N°

Faculté de Pharmacie

THESE

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

Présentée et soutenue publiquement le 04/07/2026 devant le jury de la Faculté de Pharmacie

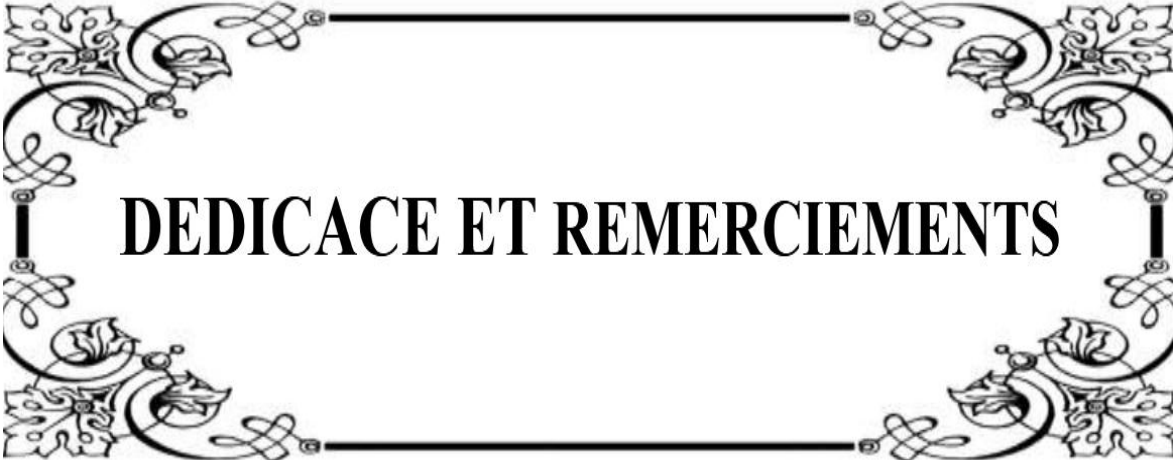
Par **M. Aboubacar BAGAYOKO**

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

JURY

Président : M. Sékou Fantamady TRAORÉ, Professeur (FAPH)
Membres : M. Cheick Amadou COULIBALY, Maître de Recherche (FAPH)
M. Adama SACKO, Entomologiste (IDMERTC)
Co-directeur : M. Brehima DIALLO, Attaché de Recherche (FAPH)
Directeur : M. Seidina A.S DIAKITE, Maître de conférences (FAPH)



DEDICACE ET REMERCIEMENTS

DEDICACES :

*A ma très chère mère, **Fatoumata Bagayoko** : Maman chérie, c'est avec larmes aux yeux que je t'écris ces dédicaces. Ce Doctorat est le fruit de tes sacrifices. Ton amour inconditionnel non seulement pour tes enfants mais pour tous ceux de la famille et du quartier, ta bonté, ton courage, ta patience, ton sang-froid et ta sérénité, ton honnêteté et tes bénédictions chère mère m'ont permis d'être ce jeune homme qui n'abandonne jamais. Femme pieuse, éducatrice hors norme, tu es ma source de motivation, ma raison de vivre et je ne pourrais jamais te remercier assez pour tout ce que tu as sacrifié pour moi et ma réussite. Je prie le bon Dieu qu'il te garde encore plus longtemps auprès de nous en bonne santé, qu'il te protège du mal, te comble par sa grâce, et te montre des jours meilleurs. Qu'il te bénisse ! Je t'aime.*

*A mon père **Youssouf Bagayoko** : Homme d'honneur et de principes, merci pour la confiance et l'enseignement, l'humilité et la modestie. Tu as toujours été un exemple pour toute la famille car tu es un travailleur acharné, rigoureux et exigeant envers toi-même et les autres. Ta rigueur, ta persévérance et ton courage dans le travail ont été pour nous une source d'inspiration inépuisable. Papa je ne pourrai jamais te récompenser. Que le Bon Dieu te donne une longue vie afin que tu puisses profiter de tous les succès et réussites de tes enfants.*

*A ma grande sœur : **Maïchata Bagayoko** et à mes frères **Mohamed Bagayoko, Moussa Bagayoko** et **Lassinè Bagayoko** : Merci pour votre affection, puisse Dieu vous donner une longue vie !*

REMERCIEMENTS :

A Allah (Soub haanahou wa Taalla) qui a fait pour nous de la terre une couche, du ciel un toit. Par sa grâce j'ai eu de la santé et du courage de venir à bout de ce travail, c'est à lui que je dois ce que je suis devenu aujourd'hui. Louange à lui Seul pour Sa Clémence et Sa Miséricorde.

*A son envoyé le Prophète **MOHAMED***

Que la bénédiction et la paix soient sur lui.

Je prie le Seigneur d'accepter ce modeste travail en témoignage de ma reconnaissance et de ma foi.

- *A ma tante chérie **Assetou Bagayoko**, merci pour la confiance, le plus grand reste à venir inchAllah.*
- *A mes sœurs et frères*

Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler. Vous êtes et vous serez toujours mes premiers compagnons pour la vie.

- *A ma bien aimée **Djénèbou Doumbia***

Tu as su me supporter pendant cette période si difficile. Tu m'as accepté tel que je suis et malgré ma situation socio-économique difficile. Saches que je n'oublierai jamais ton aide et l'amour que tu m'as apporté. Qu'Allah le miséricordieux nous donne une longue vie et beaucoup de sa grâce.

- *A tous mes **tontons, oncles et tantes***

Au nom du lien sacré de la consanguinité, ceci est la moindre façon de vous exprimer l'amour que je ressens pour vous. Je ne saurais vous remercier pour vos soutiens et conseils que vous m'avez prodigués. Trouvez ici ma profonde reconnaissance.

➤ *Au corps professoral de la **Faculté de Pharmacie (FAPH)***

Depuis le début de mes études, vous qui n'avez ménagé aucun effort pour ma formation durant tout mon cursus universitaire jusqu'à l'élaboration de ce travail. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude, et je vous en suis infiniment reconnaissant. Qu'Allah vous bénisse où que vous soyez et qu'Il fasse miséricorde aux défunts.

➤ *A mes encadreurs :*

Dr Daman Sylla : *Je vous remercie pour l'opportunité et la confiance que vous m'avez accordées en m'acceptant dans votre unité. Votre accueil, votre assistance, votre générosité, vos enseignements et conseils ont permis la réalisation de ce travail. Puisse Allah vous accorder une longue vie.*

Adama Sacko : *L'amour que vous portez à votre prochain, votre disponibilité vos enseignements, vos conseils pour moi ont été d'un apport inestimable tant sur le plan professionnel que social. Que Dieu vous accorde une vie heureuse.*

Sékou Goita et Aminata Bah : *Vos sens du travail bien fait, vos conseils et vos enseignements m'ont beaucoup aidé pour la réalisation de ce travail.*

Boubacar Coulibaly, Abdramane Fofana Moussa Diallo, Yacouba, Diarra, Yacouba Dembélé, Cheick Fantamady Traoré, Mohamed Lamine Diarra, Moridiè Sidibé, Amadou Berthé, Belco kodio : *Vous m'avez accordé votre attention, et guidé de vos conseils pour réaliser ce travail, en m'accordant avec beaucoup d'amabilité une partie de votre précieux temps. Des personnes extraordinaires, toujours présentes, disponibles et surtout sincères, préparer ce travail avec vous était un pur moment de joie, je ne vous remercierai jamais assez pour le temps que vous m'avez accordé. Merci Veuillez trouver ici, chers encadreurs, l'expression de ma haute considération et de ma profonde reconnaissance.*

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

Dr Mahamoudou Touré, Dr Drissa Konaté, Dr Amadou Guindo, Dr Allahaye Maiga, Boubacar Tembely : Je vous remercie énormément pour vos conseils et aides dans l'accomplissement de ce travail. Aucun mot ne saurait vous qualifier, merci d'être présents pour moi.

Mes remerciements vont à toute l'équipe LMIV du IDMRTC, Chacun de vous a su donner le maximum de lui-même pour m'aider chaque fois que je me trouvais dans la nécessité.

➤ A toute l'équipe clinique et data de Bancoumana et Samako.

En témoigne de la grande joie que j'ai éprouvée en travaillant avec vous.

➤ A l'équipe de laboratoire du collège Américain de pathologistes (Lab. CAP)

Merci d'avoir m'aidé dans l'élaboration de ce document, pour votre écoute attentive et pour votre constante disponibilité.

➤ A nos guides de Bancoumana et Samako

Pour l'ambiance accueillante que vous faites régner au sein du centre, vous avez facilité mon séjour à Bancoumana je vous en remercie.

➤ Au **Dr Tangara Wadiou Diakité** et aux personnels de l'officine "**MARIAM TERENAKO**"

A travers ces quelques mots, je voudrais vous dire sincèrement merci. Vous avez été un soutien inconditionnel durant toutes ces années. Vous m'avez appris le travail en équipe, le travail sous pression. J'ai pu acquérir une grande connaissance sur les principes du métier. Qu'ALLAH vous récompense pour votre dévouement et votre générosité.

➤ Au **Dr Cheick Oumar Tangara** et à tous les personnels de l'officine "**BAMINATA**"

La formation dont j'ai bénéficié au sein de vos officines m'a été et me sera d'un grand apport dans ma vie et dans ma carrière. Veuillez recevoir l'expression de mon profond attachement.

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

➤ **A mes amis (es) :**

Dr Badra Sadia Traoré, Dr Mamadou Togola, Dr Seydou Doumbia, Dr Chaka Traoré, Dr Idrissa Camara, Nouhoum Siaman, Zoumana Siaman, Youssouf Traoré, Mariam Sylla, Dr Badra Keita, Madou Koné, Ousmane Traoré. Vous avez été des guides et des éclaireurs pour moi, vous avez toujours répondu à mes attentes. Je ne saurai vous remercier assez et j'implore le tout puissant qu'il exauce nos vœux de bonheurs et renforce d'avantage nos liens d'amitié.

➤ **A la promotion du feu Dr Mamadou B Coulibaly**

*Mes amis (es) et camarades de la **16ème promotion du numerus clausus**. En souvenirs des moments de joies et de peines vécues ensemble sur le chemin des études médicales trouvez en guise de souvenir mon profond respect et ma profonde considération*



HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

À notre Maître et président du jury :

Professeur Sékou Fantamady TRAORE

- **Ancien enseignant de biologie cellulaire à la Faculté de Médecine et d'odontostomatologie ainsi qu'à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Ancien responsable de l'enseignement de la zoologie à la FAPH ;**
- **Titulaire d'un PhD en Entomologie Médicale ;**
- **Ancien directeur du Centre de Recherche et de Formation sur l'Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMERTC).**

Cher Maître,

C'est pour nous un grand honneur et surtout une grande fierté de vous avoir comme Président de ce jury. Votre simplicité, vos qualités scientifiques, humaines, d'enseignant et de formateur font de vous un exemple à suivre. C'est l'occasion pour nous de vous exprimer notre profonde reconnaissance. Qu'Allah, le Tout Puissant vous accorde santé et prospérité.

À notre Maître et juge :

Mr Adama Sacko

- **Master en entomologie et parasitologie**
- **Responsable du Laboratoire d'Immunologie et de Vaccinologie du Paludisme (LMIV)**

Cher Maître,

Votre disponibilité constante, votre rigueur scientifique, votre générosité ainsi que votre attachement au travail bien fait nous ont profondément marqués. Permettez-nous, cher Maître, de vous exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements pour l'attention que vous avez portée à ce travail, ainsi que pour vos conseils avisés et votre accompagnement inestimable.

À notre Maître et Juge :

Dr Cheick Amadou COULIBALY

- **Master en Entomologie médicale et vétérinaire,**
- **PhD en Entomologie et Parasitologie médicales,**
- **Maître de recherche à la Faculté de Pharmacie (FAPH),**
- **Chercheur au Centre de Recherche et de Formation sur l'Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMERTC).**

Cher maitre,

Permettez-nous de vous remercier pour ce grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Vos conseils et suggestions vont nous permettre d'améliorer la qualité scientifique de ce travail. Trouvez ici cher maître l'expression de notre profonde reconnaissance et de nos sincères remerciements

À notre Maître et Co-directeur de thèse :

Dr Brehima Diallo

- **Docteur en Pharmacie,**
- **Master en Bio-informatique,**
- **Chercheur au Centre de Recherche et de Formation sur l'Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMERTC).**

Cher Maître,

Tout au long de ce travail, nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques. Votre disponibilité constante et votre amour pour le travail bien fait font de vous un maître respectable. Permettez-nous cher Maître de vous adresser l'expression de notre immense gratitude et de notre sincère remerciement.

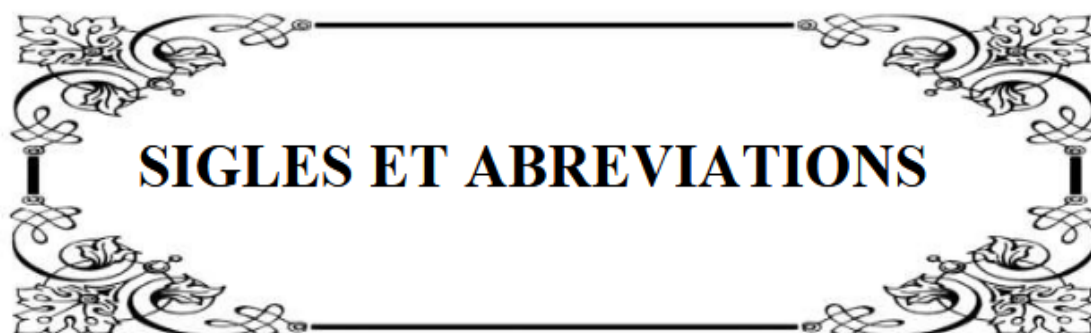
À notre maitre et Directeur de thèse :

Professeur SEIDINA A.S DIAKITE

- **Docteur en pharmacie**
- **Maitre de conférences en Immunologie à la faculté de Pharmacie FAPH de l'USTTB**
- **Chercheur au Centre de Recherche et de Formation sur l'Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMERTC) de l'USTTB**

Cher maître,

La bienvenue et la simplicité par lesquelles vous nous avez accueilli nous ont beaucoup ému. Nous avons bénéficié dès le début de notre cursus universitaire, de votre enseignement de qualité, ce qui a engendré notre estime pour vous. Nous vous sommes redevables de l'aboutissement de ce travail. Nous vous prions cher maître d'accepter l'expression de notre haute considération et de notre profond attachement



SIGLES ET ABREVIATIONS

Liste des sigles et abréviations

%: Pourcentage

ACL 2: “Arthropod Containment Level II”

ADN: Acide Désoxyribonucléique

An: *Anopheles*

°C: Degré Celsius

CNTS: Centre National de Transfusion Sanguine

CPS: Chimio-prévention Saisonnière du Paludisme

CSP: “Circumsporozoite protein”

DMFA: “Direct Membran Feeding Assay”

DSF: “Direct Skin Feeding

FAPH: Faculté de Pharmacie

F: Génération

Fig: Figure

FVR: Fièvre de la Vallée du Rift

GE: Goutte Epaisse

HRP2 :Histidine-Rich Protein 2

IDMERTC: “Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center”

ID: Identifiant

Km: Kilomètre

L: Left (gauche)

L1: Larve stade I

L4: Larve stade IV

MII: Moustiquaire Imprégné d’Insecticide

Ml: Millilitre

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

Mm: Millimètre

MSP1: Merozoïte Surface Protein 1

N: Nombre de moustique

NIH: “ National Institutes of Health (Instituts américains de la sante’ ”

OMS: Organisation Mondiale de la Sante

P: *Plasmodium*

Pfs230: Protéine de surface de *plasmodium falciparum* de 230 kDa

Pfs25: Protéine de surface de *plasmodium falciparum* de 25 kDa

Pfs48/45: Combinaison de protéines de surface de *plasmodium falciparum* de 48 kDa et 45 kDa

pLDH :*Plasmodium* Lactate Dehydrogenase

Pvs25: Protéine de surface de *plasmodium vivax* de 25 kDa

PNLP: Programme National de Lutte contre le Paludisme

RTS, S : Région centrale de la CSP, cellules T, Surface d'hépatite B et la protéine « S »

R: Right (droite)

RLT: RNA Lysis Buffer (tampon de lyse pour l'ARN)

s.l: “sens large”

SMFA: Standard Membran Feeding Assay

s.s: “sens strict”

TBV: “ Vaccins de Blocage de la Transmission”

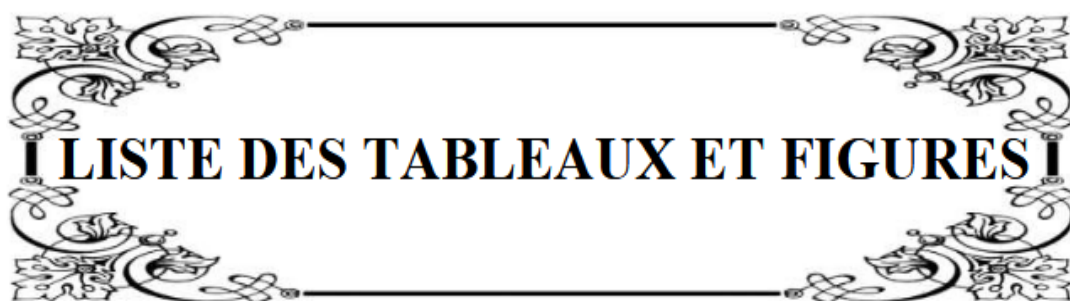
TDR: Test Diagnostic Rapide

USA: “United States of America”

USTTB: Université des Sciences des Techniques et Technologies de Bamako

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIMT: “Vaccine Interrupt Malaria Transmission”



I LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES I

Liste des tableaux :

Tableau 1 : comparaison des taux de gorgement en fonction de la technique expérimentale	44
Tableau 2 : comparaison des taux de survie des moustiques gorgés en fonction de la technique expérimentale.....	45
Tableau 3: comparaison des taux d'infection des moustiques survivants en fonction de la technique expérimentale.....	46

Liste des figures :

Figure 1: Cycle de développement des anophèles	10
Figure 2: Cycle biologique des plasmodies (source : www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html).....	14
Figure 3: Carte géographique du Mali montrant les sites d'étude Bancoumana et Samako	24
Figure 4: Photo de l'insectarium (IDMERTC).....	27
Figure 5: Photo A5 Séance de gorgement ; Figure B5 Cage avec des moustiques adultes....	31
Figure 6: Image montrant le tri des moustiques femelles de <i>Anopheles coluzzii</i> avant les essais de gorgement.....	32
Figure 7: Image montrant le mode de conditionnement des moustiques avant le transport	32
Figure 8: Figure A8 Mode de transport ; Figure B8 Conservation des moustiques sur le terrain.....	33
Figure 9: Image montrant une séance de gorgement direct sur la peau	35
Figure 10: Image montrant une séance de gorgement sur membrane réalisée selon les procédures standard décrites dans la littérature (13).....	36
Figure 11: Image montrant une séance de dissection de l'estomac du moustique	38
Figure 12: Figure A12 : Séance de lecture à la recherche d'oocyste ; Figure B12 : Estomac positif	39
Figure 13: Variation mensuelle du nombre de DSF et DMFA réalisés	43
Figure 14: Variation mensuelle du taux de gorgement et de survie de <i>An. coluzzii</i> par site d'étude	47
Figure 15 : Variation mensuelle du taux d'infection oocystique de <i>An. coluzzii</i> par site d'étude	48
Figure 16: Variation mensuelle du nombre de DSF positif par tranche d'âge et par site d'étude	49
Figure 17: Technique de la goutte épaisse.	67

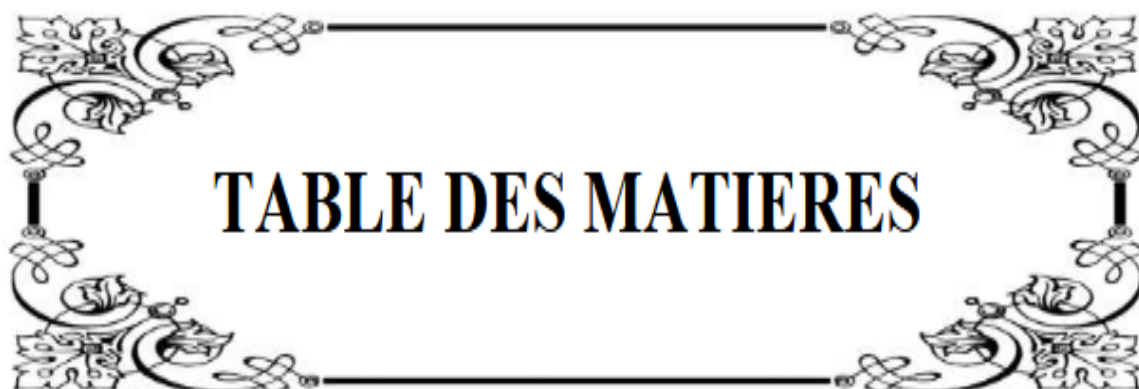


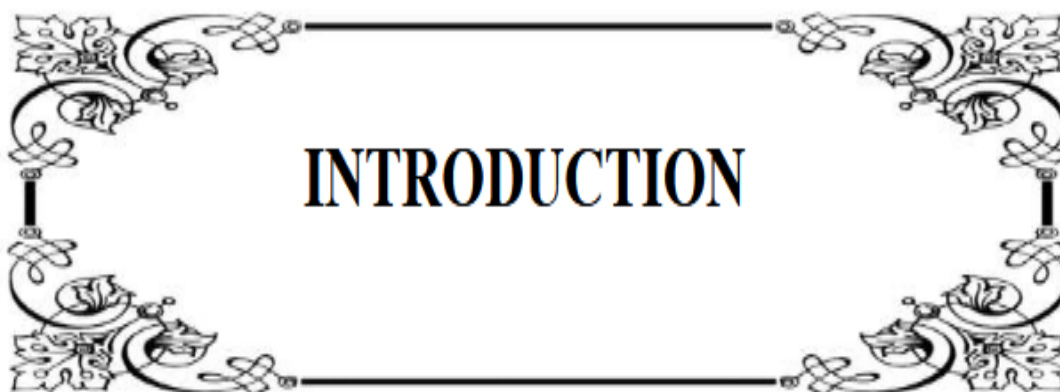
TABLE DES MATIERES

Table des matières :

1.INTRODUCTION	2
2. OBJECTIFS.....	6
2.1. Objectif général	6
2.2. Objectifs spécifiques.....	6
3. GENERALITES	8
3.1. <i>Anopheles</i> : vecteurs du paludisme	8
3.1.1. Cycle de vie	8
3.1.1.1. Vie aquatique	9
3.1.1.2. Vie aérienne	9
3.2. Le parasite.....	11
3.2.1. Systématique	11
3.2.2. Cycle biologique.....	12
3.2.2.1. Chez l'homme	12
3.2.2.2. Chez la femelle anophèle.....	13
3.3. Généralités sur les essais expérimentaux de gorgement des moustiques	14
3.3.1. Gorgement direct sur la peau.....	14
3.3.2. Gorgement direct par membrane	15
3.3.2.1. Essai Direct de Gorgement par Membrane (DMFA)	15
3.3.2.2. Essai Standard de Gorgement par Membrane (SMFA).....	16
3.3.3. But des infections expérimentales	16
3.4. Généralités sur les Vaccins contre le paludisme :	17
3.4.1 Les candidats vaccins bloquant la Transmission du Paludisme	17
3.4.1.1. Antigènes de pré-fécondation	18
3.4.1.2. Antigènes de post-fécondation.....	19
3.4.2. Candidats vaccins au stade hépatique	19
3.4.3. Candidats vaccins au stade érythrocytaire	20
3.4.4. Les candidats vaccins multistades ou vaccins multi-étapes.....	21
4. Matériels et Méthodes	23
4.1. Site d'étude.....	23
4.2. Type et Période d'étude :	25

4.3. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	25
4.3.1. Critères d'inclusion	25
4.3.2. Critères d'exclusion.....	26
4.4. Matériels.....	26
4.4.1. Matériel biologique	26
4.4.1.1. Élevage des moustiques et mesures de biosécurité de la fourniture de sang ..	26
4.5. Méthodes	34
4.5.1. Détermination de la performance du DSF par rapport au DMFA (Phase 1).....	34
4.5.1.1. Procédures du DSF.....	34
4.5.1.2. Procédures du DMFA	35
4.5.1.3. Dissection et lecture de l'estomac à la recherche d'oocystes	36
4.5.1.4. Les paramètres mesurés	39
4.5.2. Détermination des paramètres entomologiques du DSF par site d'étude (Phase 2)	40
4.5.3. Détermination du nombre de DSF positif par site d'étude et par tranche d'âge.	40
4.6. Considérations éthiques.....	40
4.6.1. Information et permission communautaire	40
4.6.2. Consentement individuel	40
4.7. Saisie et analyse des données	41
5. Résultats	43
5.1. Paramètres de performance du DSF vs DMFA (Phase 1)	43
5.1.1. Détermination du nombre de DSF et DMFA réalisés par mois	43
5.1.2. Détermination du taux de gorgement de DSF vs DMFA.....	44
5.1.3 Détermination du taux de survie de DSF vs DMFA	45
5.1.4. Détermination du taux d'infection oocystique de DSF vs DMFA.....	46
5.2.1. Détermination des taux de gorgement et de survie mensuelle du DSF par site d'étude	47
5.2.2. Détermination du taux d'infection oocystique des moustiques par site d'étude ..	48
5.3. Détermination du nombre de positivité de DSF par tranche d'âge et par site d'étude	49
6. Commentaires et Discussions	50
6.1. Détermination de la performance du DSF par rapport au DMFA (Phase 1).....	51

6.2. Détermination des paramètres entomologiques du DSF par site d'étude.....	53
6.3. Détermination du nombre de DSF positif par tranche d'âge et par site d'étude....	54
6.4. Limites de l'étude	55
7.Conclusion.....	57
8.Recommandations	58
9.Références	59
10.Annexes	66
Annexe 1 : Procédure de la goutte épaisse	66
Annexe 2 : Procédure de Test de Diagnostic Rapide (TDR) :	68



INTRODUCTION

1.INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie potentiellement mortelle provoquée par des parasites du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqûre infectante de moustiques femelles du genre *Anopheles* (1). Les espèces plasmodiales retrouvées chez l'homme à ce jour sont : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, le *Plasmodium knowlesi* et le *Plasmodium cynomolgi* (2). Les principaux vecteurs du paludisme rencontrés au Mali sont les membres du complexe *Anopheles gambiae*, abondants surtout en saison pluvieuse, et *Anopheles funestus*, plus fréquent en saison sèche fraîche (3,4). Ce modèle de répartition temporelle des vecteurs favorise la transmission continue du paludisme pendant toute l'année d'où l'appellation transmission par relai (5).

Le paludisme est la première endémie parasitaire dans le monde et constitue un problème majeur de santé publique (6). Ainsi, selon le récent rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2025 il y aurait eu plus de 282 millions de cas dont 610 000 décès l'année précédente. Parmi ces cas, environ (94%) des cas et (95%) de décès seront survenus dans les pays de l'Afrique subsaharienne (7).

Au Mali, les données du système local d'information sanitaire ont rapporté environ 3 789 600 cas confirmés de paludisme en 2024 (8).

Au cours de la dernière décennie, des investissements importants ont été réalisés dans le cadre de la lutte contre le paludisme à travers le monde avec comme conséquence une réduction significative du nombre des cas cliniques et décès dans le monde en général même si ces succès ne sont pas uniformes d'un pays endémique à un autre.

Parmi les défis associés aux récents ralentissements des progrès vers l'élimination du paludisme, on peut citer : (i) la résistance des parasites aux antipaludiques et celle des moustiques aux insecticides ; (ii) l'engagement et l'adhésion communautaire aux interventions courantes de lutte et de prévention ; (iii) l'accès aux services de soins et de santé pour tous ; et (iv) le besoin de vaccins plus efficaces pour l'ensemble des groupes d'âge, etc (7).

Par rapport au paludisme, un vaccin efficace pourrait cibler le cycle biologique du parasite soit chez l'homme ou chez le vecteur. Ainsi, les vaccins ciblant spécifiquement le cycle chez les moustiques requièrent une meilleure compréhension de leur biologie et de leurs interactions avec le parasite (9).

Récemment, le monde a connu des progrès fulgurants quant au développement, l'approbation par OMS et au déploiement de vaccins contre le paludisme chez les jeunes enfants : R21-M et RTS, S (9). Malgré ces avancées, le besoin des mesures de contrôle supplémentaires sont nécessaires pour compléter les vaccins existants et étendre leur protection à l'ensemble des populations vulnérables. Ces "vaccins interrompant la transmission du paludisme" (VIMT) pourraient jouer un rôle central dans les futurs efforts d'élimination du paludisme (10). Ainsi un vaccin qui pourra interrompre la transmission de *P. falciparum* serait une ressource précieuse dans le combat contre le paludisme (11).

Une étude de cohorte réalisée à Bancoumana entre février 2018 et janvier 2020 a mis en évidence une incidence élevée du paludisme clinique chez les enfants âgés de 5 à 18 ans (12). Étant donné le rôle important de cette tranche d'âge dans le maintien de la transmission du parasite, elle constitue une population privilégiée pour l'évaluation des vaccins bloquant la transmission du paludisme (12). Ces vaccins visent à réduire la capacité des individus infectés à transmettre *Plasmodium falciparum* aux moustiques (13).

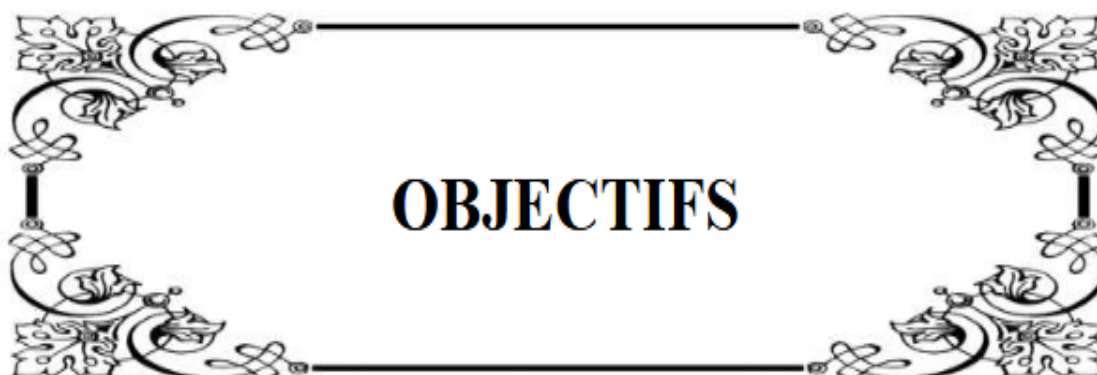
L'évaluation de ces vaccins nécessite des outils expérimentaux capables de mesurer directement la capacité d'un individu vacciné à bloquer l'infection du moustique (13). C'est dans ce contexte que des techniques de gorgement direct sur la peau (**Direct Skin Feeding = DSF**) et de gorgement direct par membrane (**Direct Membrane Feeding Assay (DMFA)**) occupent une place de choix comme moyen d'évaluation des différents candidats vaccins bloquant la transmission du paludisme (14). Ces deux méthodes sont largement utilisées dans les études de transmission, mais leur performance peut varier selon les conditions expérimentales, le contexte épidémiologique, la densité gamétocytaire chez l'homme et l'état physiologique des moustiques utilisés (15,16).

En Afrique ainsi qu'au Mali, plusieurs études ont utilisé le DSF et le DMFA pour mesurer l'inféctivité humaine aux moustiques et évaluer des interventions antipaludiques, y compris des candidats vaccins (14–20).

Toutefois, peu d'études ont comparé les performances de ces deux approches dans des conditions optimisées, notamment chez les enfants d'âge scolaire, reconnus comme le principal réservoir du parasite et jouant un rôle majeur dans le maintien de la transmission dans les zones d'endémie.

La présente étude qui s'est déroulée à Bancoumana et à Samako, deux sites situés dans une zone de forte transmission avec des expériences d'essais cliniques sur les différents candidats vaccins contre le paludisme a porté sur une comparaison des performances du DSF et du DMFA dans la mesure de la transmission de *Plasmodium falciparum*, associée à une description des paramètres de transmission mesurés par DSF chez les enfants âgés de 5 à 18 ans.

Les résultats de cette étude pourraient contribuer au choix de la méthode la plus appropriée pour l'évaluation de l'efficacité des vaccins bloquant la transmission du paludisme et fournir des données utiles à une meilleure compréhension de la transmission de *Plasmodium falciparum* dans les zones d'endémie palustre.



OBJECTIFS

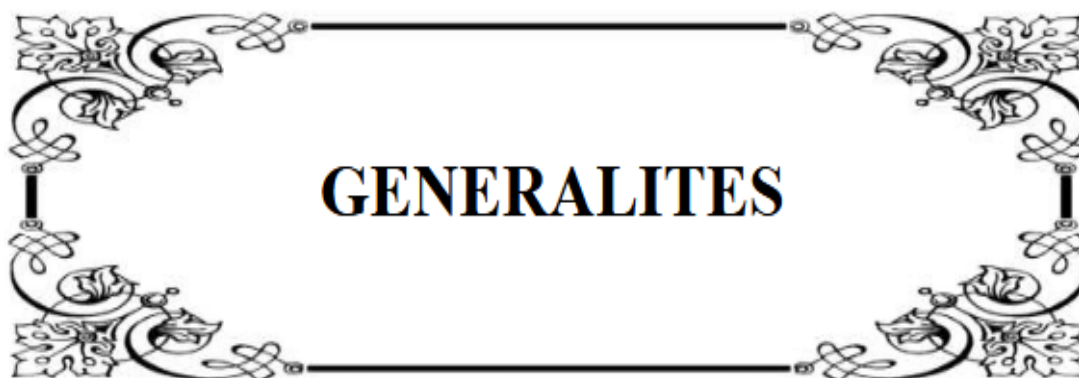
2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Evaluer l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau (DSF) et par membrane (DMFA) à Bancoumana et Samako, Mali.

2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la performance du DSF par rapport au DMFA
- Déterminer les paramètres entomologiques du DSF par site d'étude.
- Déterminer le nombre de DSF positif par site d'étude et par tranche d'âge



GENERALITES

3. GENERALITES

3.1. *Anopheles* : vecteurs du paludisme

Plus de 430 espèces d'anophèles ont été découverts dans le monde dont une quarantaine sont capable de transmettre le *Plasmodium* à l'Homme (21). Le genre *Anopheles* est un groupe de moustiques appartenant à la famille des culicidés. Ces moustiques sont d'une grande importance en raison de leur rôle de vecteurs de maladies graves, notamment le paludisme, qui est causé par des parasites du genre *Plasmodium*. Le moustique mâle se nourrit exclusivement d'aliments sucrés (nectar floraux et extrafloraux, jus sucré, etc.), tandis que la femelle s'alimente non seulement d'aliments sucrés (qui procurent l'énergie nécessaire pour le vol) mais aussi de sang humain et (ou) animal qui lui permettent le développement de ses œufs (21). C'est au cours du repas sanguin que le moustique s'infecte en ingérant des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* présents chez un individu infecté, permettant ainsi la transmission ultérieure du parasite à un individu sain lors d'une nouvelle pique infectante.

En Afrique subsaharienne, *An. gambiae* s.l. et *An. funestus* sont les vecteurs principaux (4). Au Mali, des études ont identifié plusieurs espèces de *Anopheles*, parmi lesquelles *An.gambiae*, *An. coluzzii* et *An. arabiensis* et *An. funestus* sont les vecteurs dominants. Le complexe *Anopheles gambiae* comprend plusieurs membres avec des différences écologiques et de reproduction, notamment *An.gambiae*, *An. coluzzii* et *An. arabiensis* (4). Ces espèces présentent des préférences saisonnières et géographiques distinctes : *An. gambiae* est présent pendant la saison des pluies dans les zones humides du sud, *An. funestus* prévaut pendant la saison sèche dans des habitats frais et ombragés, tandis qu'*An. arabiensis* se trouve dans les zone plus sèches et éloignées des inondations. *An. coluzzii* prédomine dans le Sahel et dans les zones irriguées (21).

3.1.1. Cycle de vie

Les moustiques du genre *Anopheles* ont un cycle de vie qui comprend quatre (04) principales étapes réparties en deux (02) phases à savoir aquatique et aérienne (21).

3.1.1.1. Vie aquatique

La première phase est aquatique et dure entre 10 et 14 jours selon l'espèce et la température ambiante. Elle comprend les stades d'œuf, de larve et de nymphe :

➤ Œufs :

Un ou deux jours suivant la prise du repas de sang, le moustique femelle adulte pond 50 à 300 œufs par oviposition et peut pondre au total entre 800 et 1000 œufs pendant son cycle de vie.

Les œufs de *Anopheles* sont pondus individuellement dans des endroits où il y'a de l'eau stagnante, comme les marais, les étangs et sont les seuls à être doter de flotteur de chaque cotés. Résistants moins à la sécheresse, ces œufs éclosent en larve au bout de deux (02) à trois (03) jours (21).

➤ Larves :

Une larve émerge de chaque œuf et flotte parallèlement à la surface de l'eau afin de respirer. Elle se nourrit des particules présentes dans l'eau. La larve mesure seulement 1 mm, elle mue trois fois avant d'atteindre 5 mm au quatrième stade. Les larves sont présentes dans toutes sortes d'habitats, mais la plupart des espèces préfèrent de l'eau propre, non polluée. Arrivée au 4e stade, la larve se transforme en nymphe.

➤ Nymphe :

Une fois que les larves ont atteint un certain stade de développement, elles se transforment en nymphe (pupe). Vu de côté, celui-ci a une forme de virgule, faisant surface régulièrement pour respirer par l'intermédiaire de trompettes respiratoires situées sur le céphalothorax (21).

3.1.1.2. Vie aérienne

Dans la vie aérienne ou encore phase adulte, les nymphes émergent de l'eau à la surface et deviennent des moustiques adultes ou imagos. 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 (21). Seules les femelles sont responsables de la transmission de maladies comme le paludisme. Elles se nourrissent de sang pour obtenir des protéines nécessaires pour la maturation des œufs et le cycle recommence. La durée de vie des femelles adultes peut aller jusqu'à un mois (ou plus en laboratoire), mais la plupart ne vivent pas plus de 2 semaines dans la nature (21) ; même si récemment une femelle anophèle colorée et relâchée a été recapturée sept mois plus tard au Mali (22).



Figure 1: Cycle de développement des anophèles

Le développement du parasite chez le moustique, notamment la formation des oocystes, constitue l'indicateur utilisé pour évaluer l'infection du moustique dans les essais de transmission tels que le DSF et le (14,17,20).

3.2. Le parasite

3.2.1. Systématique

L'agent pathogène du paludisme appartient au phylum des *Apicomplexa* ; à la classe des *Sporozoa* ; ordre des *Eucoccididae* ; famille des *Plasmodidae* et au genre *Plasmodium* (23).

Ces *Plasmodiums* humains diffèrent entre eux par plusieurs caractéristiques épidémiologiques, biologiques et cliniques spécifiques.

Il existe plus de 140 espèces de *Plasmodium*, touchant diverses espèces animales mais seules ces espèces sont retrouvées à ce jour en pathologie humaine. Il s'agit de : *Plasmodium falciparum* (LAVÉLAN 1880), *Plasmodium vivax* (Grassi et Felletti, 1890), *Plasmodium malaria* (LAVÉLAN, 1881), le *Plasmodium ovale* (Stephens 1922), *Plasmodium Knowlesi* (Knowles 1932) et *Plasmodium cynomolgi* (Martin Mayer 1907) (2).

Les espèces de *Plasmodium* rencontrées au Mali sont au nombre de quatre : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*, et *Plasmodium ovale* (24). La plus mortelle et la plus fréquente reste *Plasmodium falciparum* (24).

Il est à l'origine d'une épidémie en voie d'extension chez l'homme et est responsable d'accès graves de paludisme et de décès.

Le cycle du paludisme est complexe et comporte deux étapes essentielles : une phase asexuée chez l'homme (hôte intermédiaire), et une phase sexuée chez le moustique (hôte définitif). Le *Plasmodium* se développe pendant une partie de sa vie dans les hématies, d'où son nom hématozoaire. Chez l'homme le cycle est lui-même divisé en 2 phases :

3.2.2. Cycle biologique

Les parasites du paludisme adoptent une variété remarquable de stades morphologiques au fur et à mesure de leur transition, chaque stade est spécialisé pour habiter des environnements des hôtes mammifères et moustiques vecteurs très différents (21). Bien qu'ils soient unicellulaires, les parasites du paludisme présentent une plasticité cellulaire remarquable au cours de leur cycle de vie complexe, avec des stades allant de 1,2 à 50 µm et couvrant des environnements humains et moustiques distincts. Le développement et la transmission de la maladie sont donc soutenus par la capacité du parasite à se différencier en série et en formes morphologiquement distinctes, y compris les stades invasifs, réplicatifs et sexuels (25).

3.2.2.1. Chez l'homme

➤ La phase hépatique asymptomatique

Au cours de la piqûre, l'anophèle femelle infectée injecte dans les capillaires des sporozoïtes. Il est à noter que moins de 20% des piqûres de moustiques contenant des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires sont responsables d'infections en zone d'endémie (21). Les sporozoïtes, injectés lors de la piqûre, traversent la peau et la lymphe pour atteindre le foie. Là, ils pénètrent dans les hépatocytes en utilisant la protéine CSP pour interagir avec des récepteurs spécifiques sur la membrane cellulaire (26). À l'intérieur des hépatocytes, les sporozoïtes se transforment en schizontes hépatiques, une masse multinucléée qui se développe dans une vacuole parasitophore, protégeant ainsi le parasite contre le système immunitaire de l'hôte (27,28). Les schizontes hépatiques matures libèrent des milliers de mérozoïtes qui infectent les globules rouges en se libérant lors de l'éclatement des hépatocytes. Cette phase de multiplication hépatique est asymptomatique et dure de 7 à 20 jours, selon l'espèce de *Plasmodium*.

➤ La phase sanguine ou érythrocytaire

Très rapidement, les mérozoïtes pénètrent dans les globules rouges pour une nouvelle transformation et multiplication (stade de trophozoïtes puis transformation en (schizontes) qui prend 24 heures (*P. Knowlesi*), 48 heures (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*) ou 72 heures (*P. malaria*) et conduit à la destruction du globule rouge hôte et à la libération de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes (29).

Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux globules rouges et débutent un nouveau cycle de répllication. Cette partie correspond à l'évolution cyclique variable de la fièvre : toutes les 24 heures (*P. Knowlesi*), tierce (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*) ou quarte (*P. malaria*) (30).

En pratique, on observe que la fièvre tierce due à *P. falciparum* est rarement synchrone. Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation d'une dizaine de jours, ainsi les gamétocytes apparaissent dans le sang et vont rester en circulation pendant 10 à 15 jours.

Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes intrahépatiques restent quiescents (hypnozoïtes) et sont responsables d'une schizogonie hépatique retardée qui entraîne la libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs semaines à plusieurs mois après la piqûre du moustique, expliquant ainsi les reviviscences tardives observées avec ces deux espèces. Les hypnozoïtes n'existent pas dans l'infection à *P. falciparum* (pas de rechute). Ils n'ont pas été mis en évidence non plus dans l'infection à *P. malaria* (malgré l'existence de rechutes tardives) et *P. knowlesi* (30).

3.2.2.2. Chez la femelle anophèle :

Les gamétocytes ingérés par le moustique lors d'un repas sanguin sur un sujet infecté se transforment en gamètes mâles et femelles qui fusionnent en un œuf libre, mobile, dénommé ookinète. Cet ookinète quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite à la paroi externe de l'estomac et se transforme en oocyste. Les cellules parasitaires se multiplient à l'intérieur de cet oocyste, produisant des centaines de sporozoïtes qui migrent ensuite vers les glandes salivaires du moustique (21,31). Ces sporozoïtes sont les formes infectantes, prêtes à être inoculées avec la salive du moustique lors d'un repas sanguin sur un hôte vertébré. La durée du développement sporogonique des *Plasmodiums* varie en fonction des conditions climatiques : entre 9 et 20 jours pour *P. falciparum* (entre, respectivement, 30°C et 20°C) avec une température minimale de 18°C nécessaire à la maturation (21,32).

La présence de gamétocytes circulants chez l'homme est un élément essentiel dans la transmission du paludisme, car ce sont ces formes qui infectent le moustique lors du repas sanguin (20). Ainsi, la mesure de l'infectivité humaine aux moustiques constitue un indicateur clé dans les études de transmission, notamment à l'aide des méthodes DSF et DMFA.

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

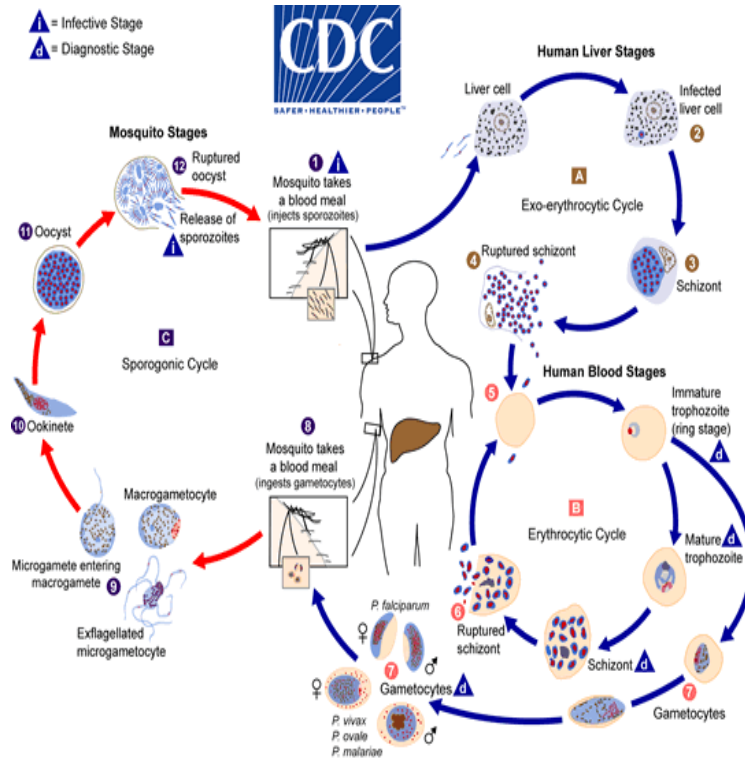


Figure 2: Cycle biologique des plasmodies (source : www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html)

3.3. Généralités sur les essais expérimentaux de gorgement des moustiques

La transmission du parasite du *plasmodium* dépend de l'ingestion de gamétocytes matures par le moustique vecteur, un processus qui peut être étudié expérimentalement par des techniques de gorgement contrôlé (10).

L'infection expérimentale des anophèles par les plasmodies est une technique délicate et essentielle pour l'étude de la transmission du paludisme et l'évaluation des interventions de blocage de la transmission (33). Il s'agit d'infections provoquées en conditions contrôlées chez des moustiques élevés en insectarium. On distingue principalement deux grandes méthodes de gorgement expérimental.

3.3.1. Gorgement direct sur la peau

C'est une méthode qui consiste à appliquer des pots contenant des moustiques sur une partie du corps (avant-bras, mollet ou cheville) des volontaires pendant quinze minutes (14).

Cette technique est aussi appelée en anglais « Direct Skin Feeding ». Elle est très proche des conditions de transmission naturelle. Historiquement, des études sur le DSF ont été menées sur un certain nombre de sites dans le monde (15,16,34,35). Plusieurs études sur cette technique ont été également menées en Afrique, plus particulièrement au Mali et se sont révélées sans risques majeur pour les participants (14,36,37).

Selon les résultats de l'étude d'optimisation du DSF réalisée au Mali en 2017 par Coulibaly et al, le taux d'infection moyen des moustiques gorgés sur l'avant-bras était meilleur par rapport à celui de cheville et du mollet sans différence significative (14).

3.3.2. Gorgement direct par membrane

C'est une technique d'infestation expérimentale qui consiste à gorger les moustiques d'élevage avec du sang à travers une membrane (Baudruche, Parafilm, etc.) dans un feeder connecté au 'feeder-machine' et maintenu à 37°C pendant quelques minutes. Une fois qu'on utilise du sang prélevé chez un individu, cette technique prend l'appellation anglo-saxonne de « Direct Membrane Feeding Assay » DMFA (14,17). Généralement deux méthodes de gorgement par membrane sont utilisées : l'Essai Standard de gorgement par Membrane (SMFA) et l'Essai Direct de gorgement par Membrane (DMFA).

3.3.2.1. Essai Direct de Gorgement par Membrane (DMFA)

Le DMFA est une méthode utilisée pour mesurer la capacité d'un parasite à infecter les moustiques vecteurs, en nourrissant ces derniers avec du sang humain contenant le parasite à travers une membrane artificielle maintenue à 37°C. Cette technique est très utilisée dans la recherche sur la transmission du paludisme et d'autres maladies vectorielles. Le DMFA est une méthode précieuse pour comprendre comment les parasites se transmettent aux moustiques.

Des travaux ont montré que plusieurs facteurs influencent la performance du DMFA, notamment l'âge des moustiques, les conditions de manipulation du sang et le délai entre le prélèvement et le gorgement. En 2017, **Coulibaly et al** ont également testé différentes conditions pour améliorer les paramètres de gorgement des moustiques lors des DMFA (14) :

- Les moustiques jeunes (3-6 jours) se gorgeaient mieux, survivaient plus longtemps et avaient un meilleur taux d'infection que les moustiques âgés (9 jours).
- Le temps de mise en jeun des moustiques (starvation) idéal était de 8 heures durant laquelle les moustiques ont montré un meilleur taux de gorgement et de survie comparée aux temps de 14 heures et 20 heures.
- Le type de membrane (parafilm vs boudruche) n'a exercé aucune influence sur le taux de gorgement des moustiques.
- Cette étude a permis d'optimiser les conditions de test sur le terrain au Mali.

3.3.2.2. Essai Standard de Gorgement par Membrane (SMFA)

Le SMFA est une version standardisée du gorgement par membrane utilisée principalement dans l'évaluation des anticorps ou des sérums dans des conditions de laboratoire contrôlées.

Le sérum (ou plasma) obtenu à partir de volontaires est mélangé à des parasites provenant d'une culture de laboratoire, et le mélange est placé dans un nourrisseur (feeder glass) recouvert d'une membrane artificielle. Des moustiques pré-affamés provenant d'une colonie de laboratoire sont autorisés à se nourrir à travers cette membrane. Une semaine après le gorgement, les moustiques sont disséqués et les estomacs sont colorés au mercurochrome pour détecter la forme oocystique du parasite.

Cette méthode est particulièrement utilisée dans les études précliniques et les essais de vaccins bloquant la transmission (38,39).

3.3.3. But des infections expérimentales

Les infestations expérimentales sont des techniques mises au point pour plusieurs buts dont on peut citer :

- Evaluer la susceptibilité des espèces d'anophèles aux différentes espèces plasmodiales (40)
- Etudier les facteurs qui déterminent la transmission hôte humain-vecteur du parasite (41) ;
- Estimer l'infection d'une population humaine pour une souche de moustiques (42) ;
- Déterminer l'effet des médicaments antipaludiques sur les stades sexuels de *plasmodium* (30)
- Evaluer les candidats vaccins bloquant la transmission du parasite du *Plasmodium* (18,43).

Ces techniques constituent aujourd'hui des outils de référence pour l'évaluation fonctionnelle de la transmission du paludisme et pour la validation des stratégies de blocage de la transmission.

Malgré leur utilisation courante, le DSF et DMFA présentent des limites importantes.

Le DMFA, bien que standardisé peut altérer la viabilité des gamétocytes en raison de la manipulation du sang tandis que le DSF, plus proche des conditions naturelles, reste difficile à standardiser. Cette divergence soulève des incertitudes quant à la méthode la plus appropriée pour mesurer la transmission du paludisme en conditions de terrain.

3.4. Généralités sur les Vaccins contre le paludisme :

Les vaccins contre le paludisme visent à réduire la morbidité, la mortalité et, à terme, la transmission de la maladie. Plusieurs approches vaccinales sont développées selon les stades du parasite ciblés : stades pré-érythrocytaires, stades sanguins et stades sexuels.

Les progrès récents ont conduit à l'introduction de vaccins antipaludiques chez les jeunes enfants dans plusieurs pays africains. Toutefois, ces vaccins ne suffisent pas à eux seuls à interrompre la transmission, d'où l'intérêt de stratégies complémentaires, notamment les vaccins bloquant la transmission.

3.4.1 Les candidats vaccins bloquant la Transmission du Paludisme

Les vaccins bloquant la transmission induisent des anticorps empêchant la maturation des stades sexuels du parasite chez le moustique. Les formes sexuées se développent dans les globules rouges quelques semaines après infection et deviennent infectantes pour les moustiques qui piquent des sujets infestés. Avec une large couverture de la vaccination, ces vaccins pourraient réduire la transmission du paludisme dans les régions d'endémie en diminuant le nombre de moustiques infectants. Un vaccin bloquant la transmission contribuerait également à empêcher l'apparition de parasites pharmaco résistants et/ou de variantes susceptibles d'échapper au vaccin, sélectionnés sous l'effet de vaccins de stades sanguins asexués et de stades pré érythrocytaires partiellement efficace (44). Au stade des formes sexuées du parasite dans le sang, les chercheurs tentent d'obtenir un vaccin dit « altruiste ». Ces candidats vaccins vont induire chez l'être humain la production d'anticorps.

Ces anticorps ingérés par le moustique lors de son repas sanguin, vont bloquer le développement du parasite au stade de gamétocyte. Ainsi, la transmission du parasite à un autre hôte sera interrompue et le cycle du paludisme aussi.

Le paludisme se transmet dans un périmètre de quelques centaines de mètres de la source infectée et le TBV apparaît comme le moyen de protéger toute une communauté (45). Le TBV cible les antigènes exprimés à la surface des gamètes du parasite et la production d'anticorps est stimulée.

Les anticorps contre les gamètes empêchent leur fécondation, détruisent les gamètes ou zygotes dans les 10 à 15 minutes après l'entrée dans le système alimentaire du moustique. Ces anticorps agissant sur les ookinètes sont efficaces 12 à 24 heures au plus tard pour les empêcher de pénétrer l'intestin de devenir des oocystes et de former les sporozoïtes, lesquels pourraient éventuellement infecter un autre hôte intermédiaire (45).

3.4.1.1. Antigènes de pré-fécondation

Plusieurs antigènes ont été identifiés comme étant présents majoritairement sur les surfaces des gamètes mâles et femelles.

Les plus fréquemment étudiés sont *Pfs230* et *Pfs48/45* contre lesquels des anticorps agissent pour bloquer la transmission in vitro. Cependant, un travail important est nécessaire avant que le blocage de la transmission du parasite soit pleinement efficace in vivo.

Le développement de ces antigènes pour un vaccin est toujours au stade initial de la recherche. Pendant une infection naturelle, ces antigènes de pré-fécondation sont aussi présents dans l'hôte intermédiaire, lequel dans un individu vacciné peut entraîner une augmentation naturelle des anticorps (45,46).

- ***Pfs48 / 45*** : Cette protéine est exprimée aux surfaces des gamétocytes et gamètes de *P. falciparum* et joue un rôle central dans la fertilité des gamètes mâles (47).
- ***Pfs230*** : Une protéine de 230kDa exprimée sur la surface de gamétocytes. L'activité de blocage des *antiPfs-230* anticorps n'a été détectée, qu'en présence des protéines du complément uniquement (48).

3.4.1.2. Antigènes de post-fécondation

La deuxième classe des antigènes consiste des protéines exprimées exclusivement ou en prédominance sur les zygotes ou les ookinètes, lesquels ne sont pas présents dans l'hôte intermédiaire.

Les réponses des anticorps ne peuvent donc pas être décuplées après une infection naturelle. Une étude d'ADN génomique, a localisé 10 descendances de gènes de *Pfs28* et *Pfs25* sur le chromosome 10 ayant le même mode de transmission génétique (49). Ces protéines sont des cibles pour les anticorps qui interfèrent avec la maturation des ookinètes et la formation des oocystes.

3.4.2. Candidats vaccins au stade hépatique

Un vaccin qui ciblerait le stade hépatique du parasite serait le seul vaccin capable d'empêcher les manifestations cliniques du paludisme. Un tel vaccin serait bénéfique pour les individus qui n'ont jamais été exposés au parasite (populations locales et voyageurs) et qui représentent une population à haut risque (45).

La réponse immunitaire qui doit neutraliser les sporozoïtes est spécifique et différente de ce qui est demandé pour détruire le parasite dans les autres stades de son évolution. Un vaccin efficace devra neutraliser chaque sporozoïte parce que chacun a la potentialité de devenir plus de 30000 mérozoïtes. C'est particulièrement difficile car les sporozoïtes ne circulent que quelques minutes dans le sang. Il est donc nécessaire qu'une forte concentration d'anticorps soit présente dans le sang. Une fois que les sporozoïtes sont à l'intérieur du foie, ils sont protégés contre les attaques du système immunitaire humain et sont donc plus difficiles à détruire (45).

➤ CSP ou Circumsporozoite Protein

La protéine du sporozoïte se développe essentiellement dans les glandes salivaires du moustique. Il s'agit de la CSP ou Circumsporozoite Protein. Les résultats positifs des études sur la réponse immunitaire de CSP ont montré que cette protéine pouvait être utilisée dans l'élaboration d'un vaccin (45).

En 2023 la lutte contre le paludisme a franchi des obstacles importants par le déploiement du tout premier vaccin antipaludique RTS,S/AS01 recommandé en 2021 et la recommandation par l'OMS d'un deuxième vaccin sûr avec une efficacité plus prometteuse, R21/Matrix-M (49).

Ces vaccins sont les seuls à avoir atteint la phase III d'essai clinique et ont été utilisés avec succès dans un contexte de saisonnalité et dans le cadre de la vaccination du paludisme saisonnier dans plusieurs pays notamment au Mali dans des essais randomisés chez les enfants de moins de 5 ans (50).

Le vaccin antipaludique RTS, S/AS01 a achevé avec succès les essais de phase III, démontrant une réduction d'environ 50% du risque de paludisme dans l'année suivante de la primovaccination et de 39% sur une période de quatre ans, avec une efficacité de 32% contre les formes graves de la maladie (51). Une dose de rappel a été recommandée pour augmenter son efficacité chez les enfants. En octobre 2021, l'OMS a approuvé ce vaccin comme le premier vaccin antipaludique au monde, spécifiquement pour les enfants vivant dans des zones à risque en Afrique subsaharienne et autres régions où le paludisme causé par *Plasmodium falciparum* est prévalent (52). Le vaccin R21 est le deuxième vaccin antipaludique recommandé par l'OMS en octobre 2023 (51). Il a montré une efficacité supérieure à l'objectif de 75%, réduisant de 77% le nombre de cas symptomatiques de paludisme au cours de l'année suivante de l'administration d'une série de trois (3) doses. Une quatrième dose un an après la troisième est recommandée pour maintenir cette efficacité élevée (53).

3.4.3. Candidats vaccins au stade érythrocytaire

Créer un vaccin pour sensibiliser le système immunitaire aux globules rouges infectés est difficile. La raison principale étant le manque de connaissance sur la réaction du système immunitaire avec la cellule infectée.

Deux types de vaccins sont envisagés : ceux qui empêchent le parasite d'envahir les globules rouges ou de s'y développer et ceux qui miment l'état de prémunition. Ces derniers sont aussi nommés « vaccins anti-maladie », car ils luttent contre les pathologies induites par le parasite (45). Le développement de vaccins contre la phase sanguine se heurte à de nombreux défis, notamment le très court de temps pendant lequel les mérozoïtes sont disponibles en dehors des érythrocytes pour une attaque facile par les anticorps induits, le grand nombre de mérozoïtes à cibler par rapport au faible nombre de sporozoïtes en phase pré-érythrocytaire, la diversité antigénique et les nombreuses voies d'invasion (54).

Plusieurs antigènes sont fortement exprimés à la surface des mérozoïtes, mais ils n'ont pas montré d'impact significatif sur le paludisme clinique (55–57).

3.4.4. Les candidats vaccins multistades ou vaccins multi-étapes

Les vaccins multistades combinent des antigènes de différents stades du cycle parasitaire afin d'obtenir une protection plus large et de réduire la transmission. Cette approche vise à produire des effets synergétiques en ciblant simultanément plusieurs étapes du cycle du parasite (58).

En 2013, l'OMS a fixé comme objectif stratégique le développement d'un vaccin multi-phases contre le paludisme, à atteindre d'ici 2030 (58).

Ainsi, plusieurs études ont examiné l'application d'un mélange ou de la Co-administration de vaccins ciblant différents stades, notamment la combinaison de RTS, S/AS01 et du *Pfs25-IMX313* avec des résultats prometteurs (61). Un autre candidat vaccin antipaludique (*cPvMSP1-Pvs25*) contre le paludisme à *Plasmodium vivax* a permis d'induire des réponses anticorps de longue durée de vie contre les parasites sanguins et une activité de blocage de la transmission (60).

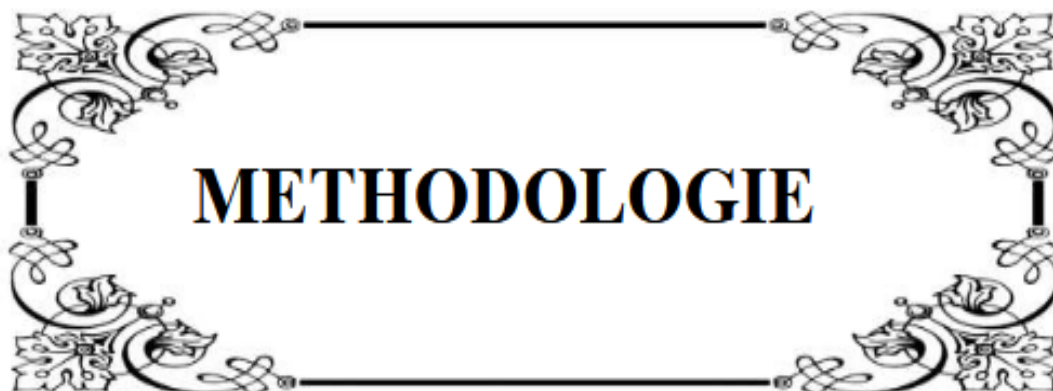
Cette approche présente plusieurs avantages :

- Elle permet d'atteindre un très haut niveau d'efficacité, ce qui semble très difficile en pratique avec des vaccins monophasés.
- Elle permet d'avoir les synergies potentielles entre les composants du vaccin agissant à différents stades du cycle de vie.

Bien que prometteuse, cette stratégie est encore majoritairement en phase préclinique.

Ainsi, l'infestation des moustiques par le *Plasmodium* repose sur l'ingestion des gamétocytes matures circulants chez l'hôte humain lors du repas sanguin. L'évaluation de cette infectivité humaine aux moustiques constitue un élément essentiel pour la compréhension et le contrôle de la transmission.

À cet effet, des approches expérimentales telles que le gorgement direct sur la peau (DSF) et le gorgement direct par membrane (DMFA) ont été développées afin de reproduire et de quantifier ce processus dans des conditions contrôlées.



METHODOLOGIE

4. Matériels et Méthodes

4.1. Site d'étude

➤ Description

L'étude a été conduite par l'équipe entomologique d'Infectious Diseases and Medical Entomology Research & Training Center (IDMERTC) de l'Université des Sciences de Techniques et Technologies de Bamako au centre de santé « **John R. La montagne** » de IDMERTC à Bancoumana et au centre de Santé de Samako.

Bancoumana est situé à 65 km au sud-ouest de Bamako (12°20'N, 8°20'W) et a une population d'environ 10.500 habitants (recensement IDMERTC Mars 2017). Le site est situé dans la zone soudanienne au sud du Mali. Le climat est chaud avec des températures journalières variant entre 19°C et 40°C. La pluviométrie annuelle varie entre 600 mm à 1200 mm et survient de juillet à novembre (14,17).

A l'instar des autres Communes, celle de Bancoumana est créée par la loi n°096-059 du 04/04/1996 portant création des communes au Mali. À dominance malinké, la commune rurale de Bancoumana est le fruit de l'union de trois secteurs :

- Le Sendougou avec comme pôle d'attraction Bancoumana.
- Le Finadougou regroupé au tour de Kéniéroba.
- Le Balaouléna et Kanibaouléna regroupé au tour de Djiguidala.

Elle est composée de 14 villages que sont : **Bancoumana** (chef-lieu de commune), Kollé, Niaganabougou, Nankilabougou, Kéniéroba, Ticko, Ouoronina, **Samako**, Missira, Tema, Niamé, Gonsolo, Djiguidala et Madina.

Samako est un petit village Malinké situé à 60 Km au Sud-ouest de Bamako, la capitale du Mali, et à 15 Km de l'axe routier RN5. Il dépend de la sous-préfecture de Siby qui à 15 km de lui. Samako est de la commune rurale de Bancoumana. Le village de Samako est entouré par les monts mandingues au nord et le fleuve Djoliba au sud qui se jette 8 km plus loin dans le fleuve Niger.

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

Le climat de Samako se divise en 2 saisons. La saison sèche commence de novembre à avril, et se subdivise en périodes hivernale ou il fait trop froid et chaude pendant laquelle on peut répertorier de fortes températures qui vont jusqu'à 38°C. Vu des aléas climatiques, la pluviométrie est souvent fluctuant et change entre 650 millimètre et 1200 millimètre annuelle.

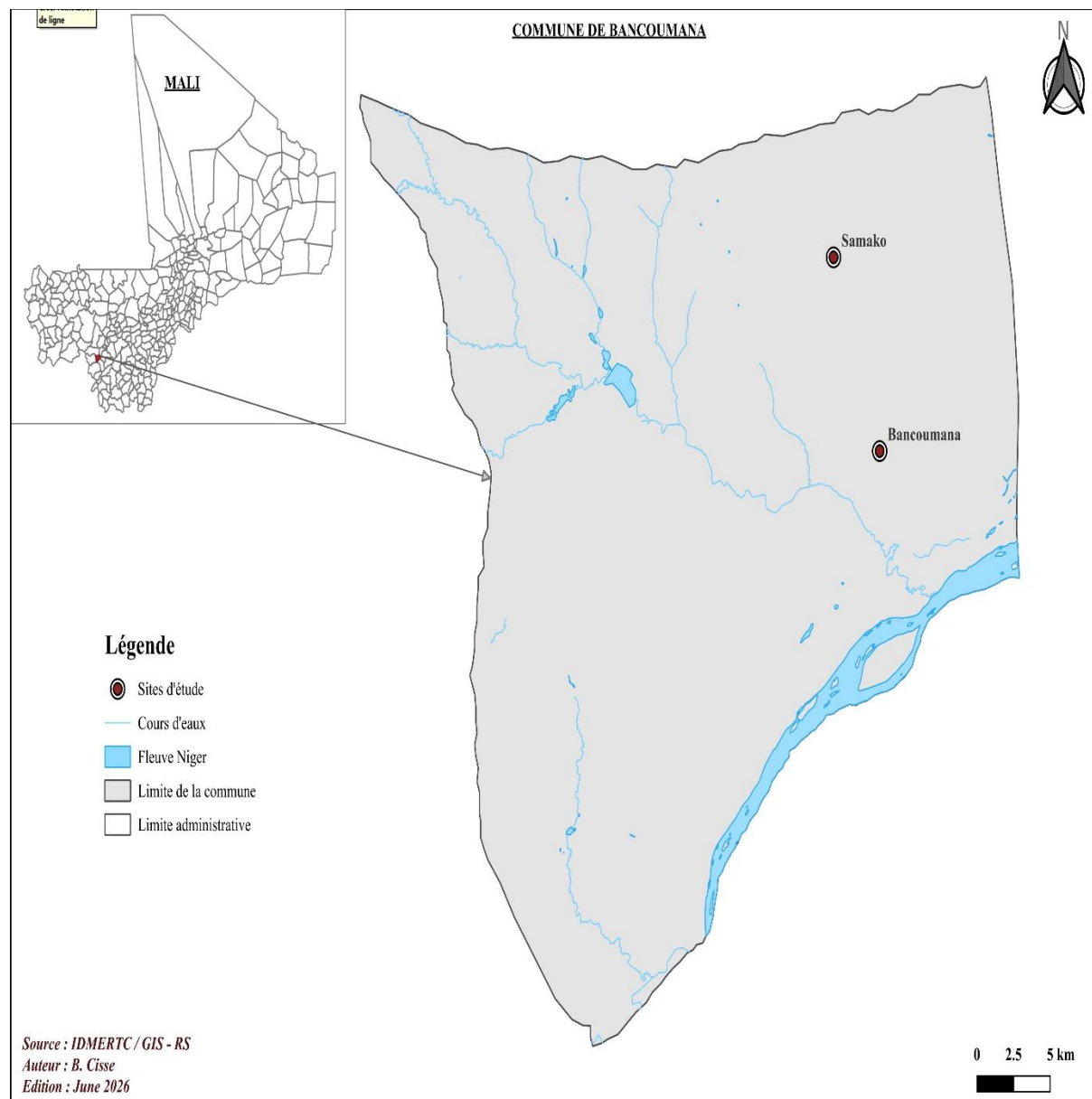


Figure 3: Carte géographique du Mali montrant les sites d'étude Bancoumana et Samako

➤ **Justification**

Depuis 1993, l'équipe de l'IDMERTC est présente à Bancoumana et intervient périodiquement à Samako dans le cadre de ses activités de recherche sur le paludisme. C'est dans ce contexte que nous avons choisi d'entreprendre la présente étude à Bancoumana ainsi qu'à son site satellite de Samako.

Le choix des sites était basé sur les raisons suivantes :

- La bonne coopération avec la population depuis 1993 à nos jours, de la présence d'infrastructures adéquates et l'engagement de la communauté.
- Des études de gorgement direct des moustiques ont été conduites à Bancoumana par le Passé et la population est familière avec le concept (17,18,36,37,46)
- L'intensité de diffusion du paludisme à *P. falciparum*.
- La stabilité relative de ses populations.

Les activités entomologiques ont été réalisés dans un laboratoire de confinement pour arthropodes de niveau II (ACL2) conforme aux normes de biosécurité en vigueur.

4.2. Type et Période d'étude :

Il s'agit d'une étude longitudinale qui a consisté à collecter de façon périodique des données chez les participants. Elle s'est réalisée en deux phases :

- **Phase 1 (de novembre 2023 à février 2024) :** Evaluation de la performance des techniques DSF et DMFA
- **Phase 2 (d'août 2024 à janvier 2025) :** Détermination des paramètres entomologiques du DSF selon le site d'étude et la tranche d'âge

4.3. Critères d'inclusion et d'exclusion

4.3.1. Critères d'inclusion

- Enfants âgés de 5 à 18 ans
- Être en bonne santé générale après que les cliniciens de l'étude ont examiné leurs antécédents médicaux et les résultats des tests de laboratoire

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

- Accepter que leur sang soit stocké en vue de recherches futures
- Être résident connu de Bancoumana ou de Samako
- Accepter de subir des gorgements directs de moustiques sur leur peau ou le prélèvement sanguin pour le DMFA
- Accepter et signer un formulaire de consentement ; et si vous avez entre 12 et 15 ans ou entre 16 et 17 ans et que vous n'êtes pas mariés ou autonome selon la loi, vous signerez un formulaire d'assentiment.

4.3.2. Critères d'exclusion

Ne peuvent pas participer à cette étude si :

- Ils souffrent d'une maladie susceptible de nuire à leur compréhension de l'étude
- Ils souffrent d'une maladie susceptible d'affecter leur sécurité et leurs droits en tant que participant à cette étude ou de leur empêcher de participer correctement à l'étude
- Ils participent ou ont accepté de participer à une autre étude sur les vaccins
- Ils ont des antécédents de réaction grave aux piqûres de moustiques.

4.4. Matériels

4.4.1. Matériel biologique :

Le matériel biologique testé était une souche de *Anophèles coluzzii*

4.4.1.1. Élevage des moustiques et mesures de biosécurité de la fourniture de sang

➤ Elevage des moustiques de *Anophèles coluzzii*

Les moustiques utilisés dans cette étude sont issus d'une colonie de laboratoire.

Cette colonie a été établie à partir de femelles *An. gambiae s.l.* de forme moléculaire M, désignée depuis 2013 comme une espèce, à savoir *Anopheles coluzzii*. La colonie est issue de collectes réalisées en N'gabakoro (commune de Moribabougou), Mali en 2008.

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

Ces moustiques étaient élevés dans un laboratoire de confinement pour arthropodes de niveau II (ACL2) du « Infections Diseases Malaria Entomology Research and Training Center » (ID-MERTC) comportant deux zones distinctes : l'une pour l'élevage et la conservation des moustiques naïfs, l'autre pour le stockage sécurisé des moustiques après leurs gorgements infectieux.

Des expériences ont montré que cette espèce s'adapte mieux aux conditions d'insectarium (température $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ et $70\pm 10\%$ d'humidité relative) et une photo périodicité de 12 heures.



Figure 4: Photo de l'insectarium (IDMERTC)

➤ Mesures de biosécurité de la fourniture de sang

Les poches de sang utilisées pour le gorgement des moustiques sont préalablement testées pour plusieurs affections incluant la syphilis, l'hépatite B, l'hépatite C et le VIH. Seules les poches testées négatives à toutes ces affections étaient utilisées pour gorger les moustiques.

En plus, d'autres conditions supplémentaires étaient requises pour s'assurer de la qualité du sang à savoir :

- Interviewer le donneur avant le prélèvement pour s'assurer qu'il n'a pas pris d'ivermectine qui peut affecter la survie des moustiques (61).
- Garder les poches au CNTS pendant 5 jours à compter de la date de prélèvement du sang.

- Au terme de ce délai, le donneur est interviewé pour s'assurer qu'il ne présente pas de signes, de fièvre ou de céphalées qui sont généralement des symptômes de la fièvre de la vallée du Rift dont le virus a été isolé chez *An. gambiae* au laboratoire

Les moustiques anophèles peuvent rarement transmettre le virus de la fièvre de la vallée de Rift (FVR), dont la transmission trans-ovarienne a été décrite (62). La FVR est surtout transmise à l'être humain par le contact direct avec les animaux infectés, bien que la transmission par les moustiques soit possible, avec les moustiques *Aedes* comme principaux vecteurs. La période d'incubation est de 2-6 jours (63).

Aucune épidémie de FVR n'a été rapportée au Mali jusqu'ici, et la transmission trans-ovarienne est rare et il est très peu probable de voir la persistance d'infection des moustiques de plusieurs générations (par exemple les colonies de moustiques de laboratoire du IDMERTC ou d'ailleurs).

Pour documenter l'absence de contamination, les colonies de laboratoire ainsi que ceux capturés sur terrain ont été testés pour la FVR par les méthodes moléculaires et la confirmation d'isolation virale. Tous les tests effectués ont été négatifs à ce jour.

4.4.2. Matériel technique :

Cette étude a été réalisée par quatre (4) équipes de recherche.

➤ Equipe clinique

L'équipe clinique prenait les paramètres vitaux (température, tension artérielle...) de chaque volontaire avant de le conduire au laboratoire. Tous les volontaires remplissaient un questionnaire d'éligibilité DSF/DMFA avant chaque essai de gorgement. Leurs antécédents médicaux et leur température étaient relevés avant chaque essai.

Les volontaires présentant une température supérieure à 37,5 °C étaient exclus du gorgement. De même, toute personne déclarant être malade, atteinte de paludisme ou d'une autre affection était exclue. L'éligibilité était soigneusement documentée dans un formulaire dédié.

➤ **Equipe du laboratoire**

Lors de chaque visite, un prélèvement sanguin veineux était effectué chez tous les volontaires pour la réalisation de la goutte épaisse (GE) et du Test de Diagnostic Rapide (TDR). Après leur passage au poste clinique, où un numéro de screening leur était attribué, les participants ont eu un prélèvement veineux de 1 ml de sang dans un tube EDTA destiné au diagnostic du paludisme ainsi que de 2 à 3 ml de sang veineux dans un tube hépariné pour la réalisation du Direct Membrane Feeding Assay (DMFA).

Une fois le prélèvement effectué, les tubes ainsi que les confettis étaient identifiés à l'aide d'étiquettes portant le numéro d'identification du participant, son sexe, le numéro de l'étude, la date et l'heure du prélèvement ainsi que les initiales du biologiste responsable du prélèvement. Les échantillons étaient ensuite disposés dans des portoirs adaptés et acheminés vers le laboratoire. À leur réception, un contrôle de la conformité de l'étiquetage était réalisé, suivi du tri des échantillons avant leur traitement et les différentes analyses biologiques.

- **Gouttes épaisses et frottis minces :**

Les gouttes épaisses et les frottis minces colorés au Giemsa ont été examinés au laboratoire clinique conformément aux procédures standards.

- **Diagnostic Rapide du Paludisme :**

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

Après les examens du TDR au laboratoire, le dossier des volontaires était transmis aux cliniciens pour évaluer l'éligibilité du volontaire pour la séance de gorgement des moustiques.

➤ **Equipe d'entomologie**

❖ **Production des moustiques :**

Les anophèles femelles étaient gorgées sur membrane avec du sang (groupe O+) de donneurs sains du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS). Cet apport sanguin est indispensable pour la maturation des œufs de moustiques. Les femelles étaient gorgées une fois par jour pendant deux jours successifs pour leur permettre de développer des œufs. Après leur gorgement sur membrane, les femelles étaient gardées au repos pendant 2-3 jours successifs nécessaires pour la digestion du repas de sang et la maturation des œufs. Au troisième jour, trois ou quatre boîtes de pétri contenant du coton imbibé d'eau et recouvert par papier wattman (pour simuler les gîtes de reproduction de la nature dans lesquels les femelles de *Anopheles gambiae* pondent leurs œufs) étaient placées dans les cages pour deux jours afin que les femelles viennent y pondre. La collecte des œufs se faisait (1 à 2) jours après la mise en ponte. Au bout de 48 h, ces boîtes sont retirées et les œufs sont repartis dans des plateaux étiquetés (date de ponte, génération, souche de la colonie) contenant de l'eau de robinet pour leur éclosion. Les larves issues de l'éclosion sont nourries à la Koi Food®. La densité moyenne de larves par plateau était d'environ 200 individus pour un litre d'eau. Elles vont poursuivre leur développement du stade L1 à L4 par des mues successives tous les deux jours. Une fois, au stade L4, elles se métamorphosent en nymphes.

Dans les conditions de notre insectarium, les nymphes étaient observées entre le 10ème et le 14ème jour après la ponte des œufs dont elles sont issues.

Les nymphes étaient collectées quotidiennement et placées dans une cage d'émergence sur laquelle était écrite la date de leur émergence, le rang de la génération ainsi que la provenance de la souche. Le lendemain, les nymphes non-émergées sont retirées des cages et ajoutées aux nymphes du jour, placées dans une nouvelle cage s'il y a beaucoup de moustiques dans la précédente.

Les moustiques d'une des cages d'émergence (cubiques de 30x30x30cm faites de tulle moustiquaire de chaque côté) sont sélectionnés et gorgés deux à trois jours après leur émergence, pour le maintien de la colonie.

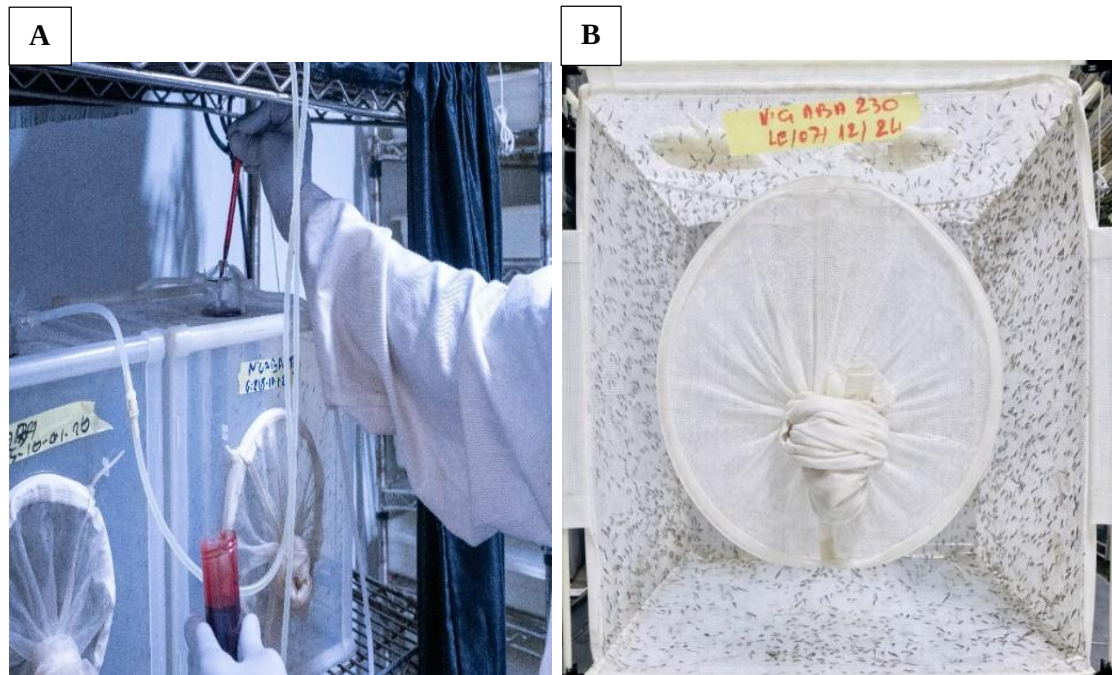


Figure 5: Photo A5 Séance de gorgement ; Figure B5 Cage avec des moustiques adultes

Source: Infections Diseases Medical Entomology Research and Training Center 2024

❖ Tri des moustiques femelles pour le gorgement

Le tri des moustiques est une étape très importante qui demande beaucoup de précautions pour ne pas les endommager et les rendre inaptes au moment du gorgement. Il a été résumé ici de manière sommaire :

L'opérateur utilisait un aspirateur de transfert : tenant le tube dans la main et la gaine dans la bouche, aspirait un petit nombre de moustique dans le tube (3-5 moustiques). Il plaçait son index sur le bout du tube (pour éviter que les moustiques ne s'échappent) et comptait leur nombre ;

Il les transférait doucement dans les pots par expiration ; puis il fermait le trou de la base du pot avec un tampon de coton sec. Ces gestes étaient répétés jusqu'à avoir le nombre de moustiques requis par pot.

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali



Figure 6: Image montrant le tri des moustiques femelles de *Anopheles coluzzii* avant les essais de gorgement

Source: Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center 2026

❖ Conditionnement

Après le tri, les moustiques étaient conditionnés afin de les assurer un transport sans dommage : les pots étaient placés dans les caisses en bois bien fixés dans leurs loges et recouverte d'une serpillière mouillée pour y maintenir l'humidité optimale. Des précautions sont également prises pour éviter les chocs et les bousculades inutiles pendant le transport



Figure 7: Image montrant le mode de conditionnement des moustiques avant le transport

Source: Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center 2026

❖ Transport et conservation des moustiques sur le terrain

La climatisation du véhicule était mise en marche 15 mn avant le départ et le chauffeur devait rouler doucement pour éviter les secousses. Arrivé sur le site d'étude, les moustiques étaient gardés dans une salle équipée d'un humidificateur et d'un climatiseur pour maintenir constantes l'humidité relative et la température de la salle, enregistrées par un thermo-hygromètre HOBO (Fig.8).



Figure 8: Figure A8 Mode de transport ; Figure B8 Conservation des moustiques sur le terrain

Source: Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center 2025

Les moustiques triés étaient nourris avec des tampons de coton imbibés de jus sucré à 10% posés sur la tulle moustiquaire qui couvre la partie supérieure des pots. Quatre (04) heures avant le gorgement, ces tampons de coton ont été remplacés avec d'autres tampons imbibés d'eau simple. Après ces premières (04) heures ils ont été mis à jeun complet pendant un autre (04) heures avant le gorgement.

➤ Equipe de gestion des données

Elle s'occupait de l'enregistrement électronique de toutes les données de l'étude, de leur vérification et des corrections nécessaires.

4.5. Méthodes

4.5.1. Détermination de la performance du DSF par rapport au DMFA (Phase 1)

Cette phase décrit les procédures expérimentales utilisées pour déterminer la performance en conditions du terrain de deux techniques de gorgement des moustiques : le Direct Skin Feeding (DSF) et le Direct Membrane Feeding Assay (DMFA).

Les deux méthodes ont été réalisées avec des moustiques d'élevage, soumis aux mêmes conditions de jeun, de manipulation et de transport.

Elle a été portée sur 200 volontaires en bonne santé, âgés de 5-18 ans, résidant à Bancoumana. Tous les volontaires du groupe ont été examinés par les cliniciens et dépistés à la goutte épaisse/frottis sanguin et au Test Diagnostic Rapide (TDR) par l'équipe de parasitologie. A chaque visite mensuelle au centre d'étude, les tests de gorgement suivants étaient réalisés :

- **Sur la peau (DSF)** : de tous les volontaires positifs au TDR ainsi que les dix (10) premiers négatifs au TDR présents ;
- **Sur membrane parafilm (DMFA)** : avec le sang veineux de tous les volontaires positifs au TDR ainsi que les deux premiers négatifs au TDR choisis lors de chaque visite mensuelle

4.5.1.1. Procédures du DSF

Pour les DSF prévus dans cette étude, deux (2) pots de gorgement ont été préparés pour chaque volontaire. Chaque pot contenait 30 moustiques femelles âgés de 3-5 jours préalablement affamés pendant 08 heures. Il portait chacun le numéro d'identifiant du volontaire suivi de la mention **DFS-L** (pour le pot qu'on appliquait sur l'avant-bras **gauche** du volontaire) et **DFS-R** (pour l'avant-bras **droit**). Chaque sujet était exposé aux pots de gorgement pendant 15 minutes dans une salle qui répondait aux conditions optimales pour les moustiques. Tous les participants recevaient un anti-histaminique topique et/ou antiprurigineux topique après le gorgement. Pendant le DSF les lumières de la salle étaient éteintes pour donner l'impression aux moustiques qu'il fait nuit.



Figure 9: Image montrant une séance de gorgement direct sur la peau

Source: Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center 2025

4.5.1.2. Procédures du DMFA

Chaque participant retenu était prélevé sur un tube héparine de lithium et l'échantillon de sang veineux était immédiatement transféré dans les nourrisseurs en verre (feeders) pour le gorgement pendant 15 minutes. Les prélèvements étaient effectués dans le laboratoire et apportés dans la salle de DMFA. Le feeder- machine était mis en marche et ajusté à 37°C au niveau des têtes feeders à l'aide du thermorégulateur au moins pendant 5 à 10 mn avant le début du gorgement. Le feeder-machine contient de l'eau qui circule à travers les feeders maintenant ainsi la température constante à 37°C équivalent à la température corporelle jusqu'à la fin des opérations. Le para film était utilisé comme type de gorgement membranaire ; il a été découpé environ 2 x2 cm et étiré au maximum avant de couvrir les 2 bases du feeder prévues pour chaque volontaire. Chaque feeder de petit calibre (mini-feeder) recevait 1ml de sang. Les moustiques contenus dans les pots étiquetés avec leurs références étaient appliqués à chaque feeder pendant 15 minutes dans une obscurité artificielle permettant au maximum des moustiques d'être gorgés.



Figure 10: Image montrant une séance de gorgement sur membrane réalisée selon les procédures standard décrites dans la littérature (13)

Source: Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center 2024

Après ces gorgements, le nombre de moustiques dans chaque pot pour chaque volontaire qui ont pris le sang et ceux qui n'en ont pas pris étaient déterminés. Les moustiques non-gorgés étaient retirés. Ces informations, ainsi que la date et l'heure du DSF/DMFA, la température et l'humidité au moment du gorgement étaient enregistrées sur la fiche du Feeding rate (taux de gorgement). Les pots contenant ainsi les femelles gorgées étaient ensuite replacés dans les caisses et nourries avec du jus sucré 10%. Elles sont gardées à Bancoumana pendant 24 heures après les expériences avant d'être envoyées à Bamako.

4.5.1.3. Dissection et lecture de l'estomac à la recherche d'oocystes

Cette dissection consiste à extraire l'estomac du moustique sous une loupe binoculaire dans une goutte de mercurochrome à 0,5%. Ensuite l'examen microscopique des estomacs est fait pour la recherche des oocystes. Toute la lecture a été faite au microscope à l'objectif 10 et confirmée à l'objectif 40.

➤ **Mode opératoire de dissection**

❖ **Préparation du mercurochrome**

- Peser et transférer 0,25 g de merbromine dans un flacon.
- Ajouter 50 ml d'eau distillée.
- Secouer le tube pour rendre la solution homogène.
- Enrouler ce tube avec du papier aluminium pour éviter la dégradation de la solution par la lumière.

❖ **Technique de dissection**

- Secouer plusieurs fois le pot contenant les moustiques pour les assommer.
- Préparer une lame pour deux moustiques et déposer une gouttelette de mercurochrome pour chaque moustique sous la loupe.
- Étaler le moustique dans la gouttelette de mercurochrome.
- Poser le moustique sur sa face dorsale et piquer avec la seringue à insuline au niveau du thorax, tirer sur les deux derniers segments d'un mouvement continu et doux. L'estomac est ainsi extrait avec les ovaires et les tubes de Malpighi.
- Enlever les autres éléments et recouvrir l'estomac avec une lamelle pour la lecture au microscope.
- Si les tubes de Malpighi restent coller à l'estomac, pincer les avec la pince de dissection et couper aux extrémités internes avec la seringue à insuline.



Figure 11: Image montrant une séance de dissection de l'estomac du moustique

Source: Infections Diseases and Medical Entomology Research and Training Center 2025

➤ **Lecture**

Elle a consisté à examiner au microscope les estomacs de moustiques à la recherche d'oocystes à l'objectif 10x ; confirmer si incertain à l'objectif 40x.

La présence et le nombre d'oocystes pour chaque moustique seront enregistrés dans la base de données. Un estomac sera considéré comme positif s'il y'a au moins un oocyste présent sur la lame. Par la suite, les intestins moyens infectés ont été systématiquement retirés des lames et conservés dans la solution du RLT-BUFFER PLUS pour des analyses moléculaires complémentaires.

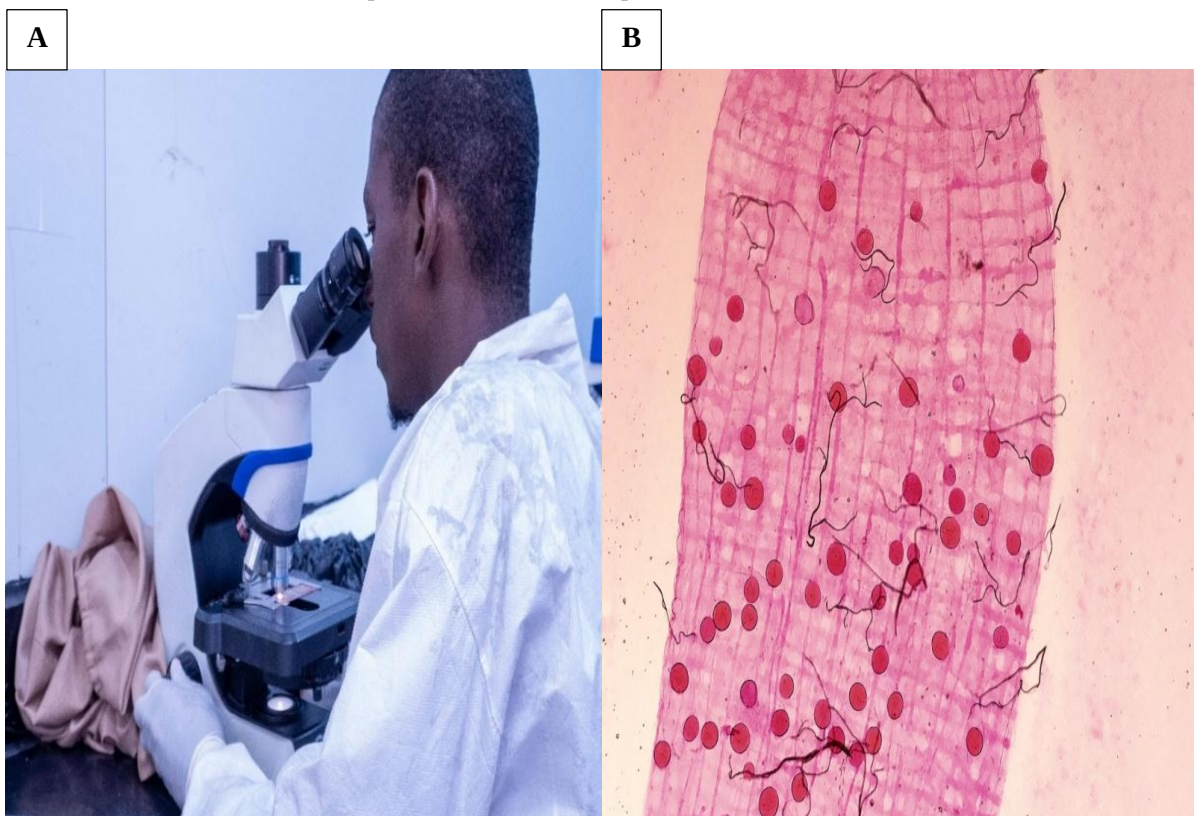


Figure 12: Figure A12 : Séance de lecture à la recherche d'oocyste ; Figure B12 : Estomac positif

Source: Infectious Diseases and Malaria Entomology Research and Training Center 2025

4.5.1.4. Les paramètres mesurés

Ces paramètres suivants ont été déterminés.

- **Taux de gorgement des moustiques = (Nombre de moustiques entièrement gorgés de sang / nombre total de moustiques utilisés) *100.**
- **Taux de survie des moustiques = (Nombre de moustiques survivant jusqu'au jour de la dissection /nombre de moustiques gorgés) *100.**
- **Taux d'infection des moustiques = (Nombre de moustiques portant au moins 1 oocyste /nombre de moustiques disséqués) *100**
- Le nombre des DFS et DMFA mensuels réalisés ont été déterminés à partir des données extraites de **DFexplore 5.7.0.**

4.5.2. Détermination des paramètres entomologiques du DSF par site d'étude (Phase 2)

Cette section décrit les procédures d'évaluation des paramètres entomologiques mesurés par DSF chez les volontaires de Bancoumana et Samako.

Elle a été portée sur deux cohortes de 200 volontaires âgés de 5-18 ans chacune, chez qui deux visites par mois ont été effectuées au centre de recherche clinique de Bancoumana et une visite mensuelle au centre de santé de Samako.

Les procédures avant et lors du DSF étaient les mêmes que celles décrites dans la phase1.

4.5.3. Détermination du nombre de DSF positif par site d'étude et par tranche d'âge

Pour mieux comprendre la répartition de la transmission au sein de la population d'étude, les participants ont été stratifiés en trois tranches d'âge différentes : 5-8 ans, 9-13 ans et 14-18 ans. Elle a concerné uniquement les données issues de la phase 2 de l'étude.

Cette stratification a été effectuée afin d'explorer les variations potentielles de l'infectivité humaine selon l'âge au sein des enfants et adolescents de 5 à 18 ans, une population reconnue comme jouant un rôle majeur dans le maintien de la transmission du (36,64).

4.6. Considérations éthiques

4.6.1. Information et permission communautaire

Des investigateurs cliniques et des internes en médecine sont partis à Bancoumana et son extension Samako pour l'information et la permission communautaire. Ils ont convoqué des réunions au niveau de chaque site avec les différents chefs de village et les chefs de famille, les relais du village où ils ont expliqué, avec le formulaire de consentement, les informations générales sur l'étude, le protocole y compris les objectifs de l'étude, les populations cibles, les procédures de l'étude, les avantages de l'étude pour le village et pour la recherche dans la lutte contre le paludisme. La permission communautaire a été obtenue avant la mise en œuvre des procédures de l'étude.

4.6.2. Consentement individuel

Les procédures de consentement ont commencé après l'obtention de la permission communautaire et ont varié en fonction de l'âge des participants. Les participants âgés de 18 ans ont donné leur consentement libre, éclairé et écrit. Pour les participants de moins de 18 ans, le consentement a été obtenu auprès des parents ou représentant légal.

En plus de ce consentement, l'assentiment a été obtenu pour les participants âgés de 12 à 17 ans. L'administration du consentement éclairé a été faite en langue locale comprise par les participants telle que décrite dans le formulaire d'information et de consentement.

Le document d'informations générales de consentement éclairé a été utilisé pour expliquer les risques et les avantages de la participation à l'étude aux participants et dans le cas des participants de moins de 18 ans, au représentant légal du participant en termes simples avant que le participant ne soit enrôlé dans l'étude. Le formulaire de consentement éclairé a été signé et daté personnellement par le participant ou le représentant légal ainsi que l'investigateur qui mène la discussion sur le consentement éclairé. L'original du formulaire de consentement éclairé signé a été conservé dans le dossier du participant et une autre copie lui a été remise. Le participant qui ne savait ni lire ni écrire apposait une empreinte de son doigt à la place d'une signature ; de plus, un témoin indépendant signait le formulaire de consentement pour attester que les informations contenues dans le formulaire de consentement ont été transmises oralement au participant. Le consentement a été obtenu pour chaque participant avant toute procédure à l'étude.

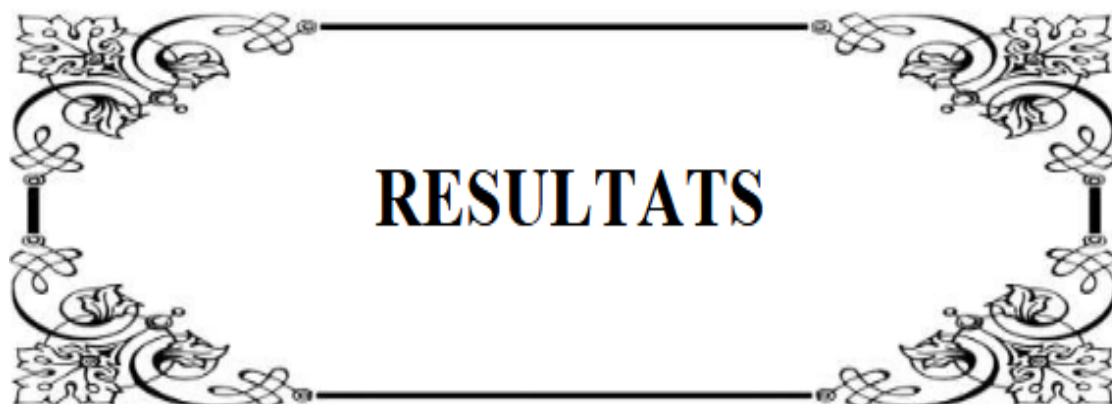
Tous les protocoles ont été au préalable soumis à l'approbation du comité éthique de l'Université des Sciences des Techniques et Technologies de Bamako sous le N°02023/250/CE/USTTB.

4.7. Saisie et analyse des données

Les données ont été recueillies sur des formulaires de report de cas (FREC) puis scannées et faxées dans une base de données électronique appelée eDataFax. Après extraction des données du système eDataFax, elles ont été sauvegardées dans Excel.

Les données ont été analysées par le logiciel Excel 2016 et SPSS version 27.0.

Les comparaisons de proportions (DSF vs DMFA) ont été effectuées à l'aide du test du χ^2 de Pearson. Le seuil de significativité statistique était fixé à $p < 0,001$.



RESULTATS

5. Résultats

5.1. Paramètres de performance du DSF vs DMFA (Phase 1)

5.1.1. Détermination du nombre de DSF et DMFA réalisés par mois

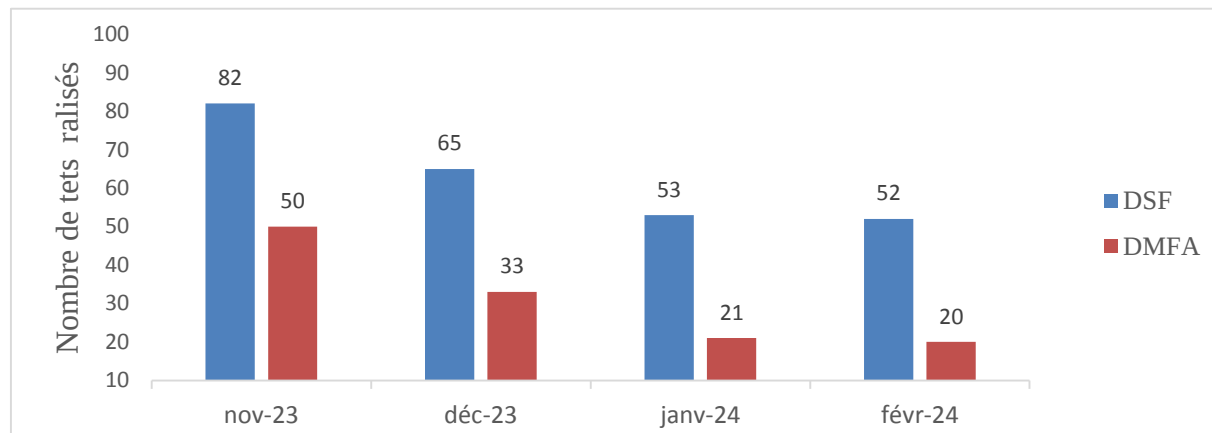


Figure 13: Variation mensuelle du nombre de DSF et DMFA réalisés

Un total de **252 DSF** et **124 DMFA** ont été réalisés à Bancoumana. Malgré, une réduction progressive pour chaque approche, le nombre de DSF réalisés est resté toujours supérieur à celui des DMFA.

Le nombre moyen mensuel de DSF (**63**) était deux fois supérieur à celui de DMFA (**31**).

5.1.2. Détermination du taux de gorgement de DSF vs DMFA

Tableau 1 : comparaison des taux de gorgement en fonction de la technique expérimentale

<i>Mois</i>	DSF			DMFA		
	Nombre de moustiques gorgés	Nombre de moustiques utilisés (N)	Taux de gorgement (%)	Nombre de moustiques gorgés	Nombre de moustiques utilisés(N)	Taux de gorgement (%)
<i>Nov-23</i>	4841	4920	98,39	2965	3000	98,83
<i>Dec-23</i>	3863	3900	99,05	1966	1980	99,29
<i>Janv-24</i>	3139	3180	98,71	1248	1260	99,04
<i>Fevr-24</i>	3090	3120	99,03	1191	1200	99,25
<i>TOTAL</i>	14933	15120	98,76	7370	7440	99,06

Globalement, le taux moyen de gorgement était de **98,76%** [98,53% - 98,99%] avec la technique **DSF** et de **99,06%** [98,77% - 99,35%] avec la technique **DMFA**. La différence observée entre les deux techniques n'était pas statistiquement significative au seuil de 1% [$X^2 = 3,88$; $P = 0,048$; ddl=1 ; $P > 0,01$].

5.1.3 Détermination du taux de survie de DSF vs DMFA

Tableau 2 : comparaison des taux de survie des moustiques gorgés en fonction de la technique expérimentale

<i>Mois</i>	DSF			DMFA		
	Nombre de moustiques disséqués	Nombre de moustiques gorgés (N)	Taux de survie (%)	Nombre de moustiques disséqués	Nombre de moustiques gorgés(N)	Taux de survie (%)
<i>Nov-23</i>	2966	4841	61,26	1816	2965	61,24
<i>Dec-23</i>	2485	3863	64,32	1243	1966	63,22
<i>Janv-24</i>	2413	3139	76,87	962	1248	77,08
<i>Fevr-24</i>	1966	3090	63,62	762	1191	63,97
<i>TOTAL</i>	9830	14933	65,82	4783	7370	64,89

Le taux moyen de survie des moustiques n'était pas significativement différent en fonction techniques d'alimentation avec **65,82%** [64,82% - 66,82%] pour **DSF** et **64.89%** [63,46% - 66,32%] pour DMFA [$X^2 = 1,88$; $P = 0,17$; ddl=1, $P > 0,01$].

5.1.4. Détermination du taux d'infection oocystique de DSF vs DMFA

Tableau 3: comparaison des taux d'infection des moustiques survivants en fonction de la technique expérimentale

	DSF			DMFA		
Mois	Nombre de moustiques infectés	Nombre de moustiques dis-séqués (N)	Taux d'infection (%)	Nombre de moustiques infectés	Nombre de moustiques dis-séqués (N)	Taux d'infection (%)
Nov-23	7	2966	0,23	6	1816	0,33
Dec-23	42	2485	1,69	5	1243	0,40
Janv-24	18	2413	0,74	1	962	0,10
Fevr-24	0	1966	0	0	762	0
Total	67	9830	0,68	12	4783	0,25

Le taux d'infection oocystique sur l'ensemble des expériences en fonction des techniques d'alimentation était significativement plus élevé avec le DSF **0,68%** [0,47% - 0,90%] que le DMFA qui était de **0,25%** [0,07% - 0,44%] ($X^2 = 11,10$; $P = 0,0009$; ddl=1, $P < 0,01$).

5.2. Détermination des paramètres entomologiques du DSF par site d'étude (phase 2)

Au total 3468 DSF ont été réalisés dans les deux sites. A Bancoumana 2341 ont été réalisés sur 2400 programmés et à Samako 1127 ont été réalisés sur 1200 programmés.

5.2.1. Détermination des taux de gorgement et de survie mensuelle du DSF par site d'étude

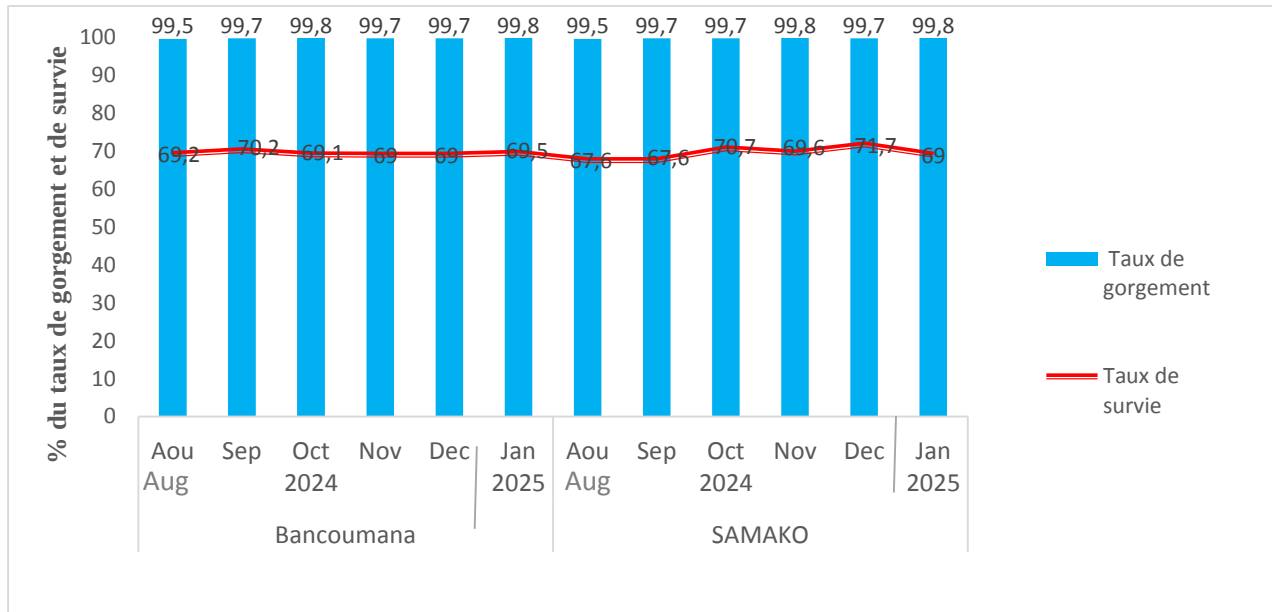


Figure 14: Variation mensuelle du taux de gorgement et de survie de *An. coluzzii* par site d'étude

Au total 207449/22560 moustiques ont été gorgés dans les deux sites soit **99,7% [99.61% - 99.79%]**.

Les taux de gorgement sont demeurés élevés et stables dans les deux sites durant toute la période d'étude. Les taux de survie ont présenté de faibles fluctuations mensuelles tout en restant globalement proches de **70 %**.

Les taux moyens de gorgement des moustiques étaient de 99,70% (N= 140040) à Bancoumana et 99,69%(N=67409) à Samako.

Le taux moyen de survie des moustiques dans les deux sites était de **69,34%** [69.08%- 69.60%], soit au total 143839 moustiques survivants au moment de la dissection.

Il était de 69,32% (N= 97081) à Bancoumana et 69,36%(N=46758) à Samako

5.2.2. Détermination du taux d'infection oocystique des moustiques par site d'étude

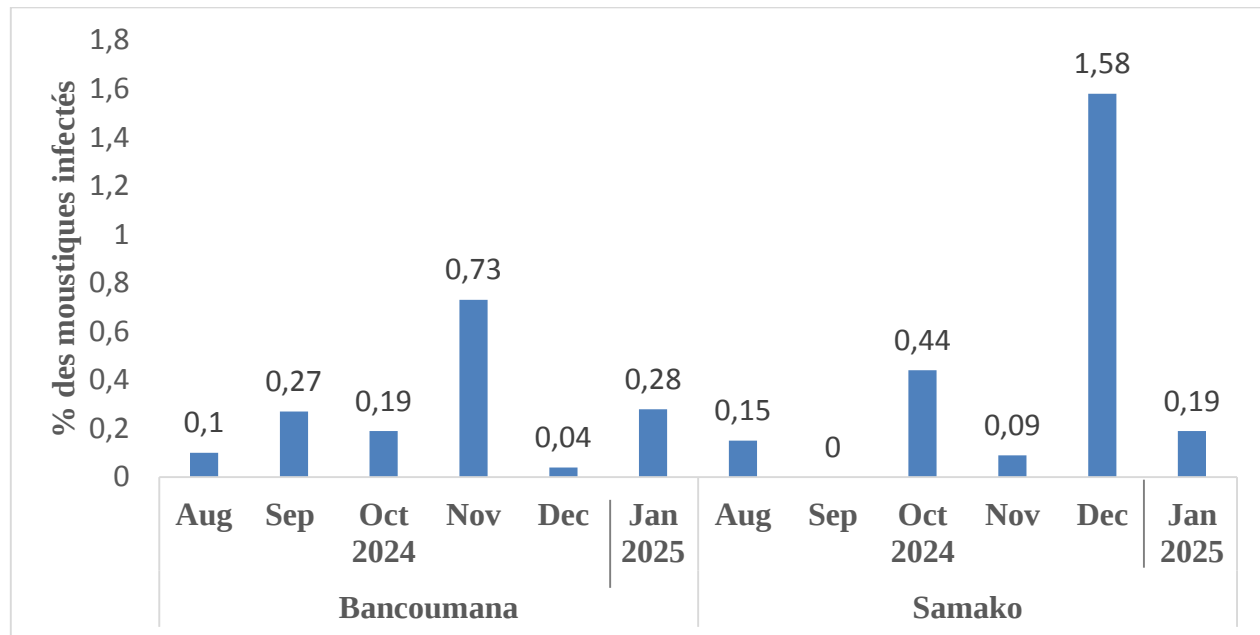


Figure 15 : Variation mensuelle du taux d'infection oocystique de *An. coluzzii* par site d'étude

Le taux d'infection oocystique a présenté des fluctuations mensuelles dans les deux sites d'étude. Les pics ont été observés en novembre 2024 à Bancoumana et en décembre 2024 à Samako, alors que les valeurs les plus faibles ont été enregistrées en décembre 2024 à Bancoumana et en septembre 2024 à Samako.

Le taux moyen d'infection oocystique des moustiques dans les deux sites était de **0,31% [0,27% - 0,35%]** soit (**452 infectés/143839** disséqués).

Il était de 0,27% (N= 259) à Bancoumana et 0,41 % (N=193) à Samako.

5.3. Détermination du nombre de positivité de DSF par tranche d'âge et par site d'étude

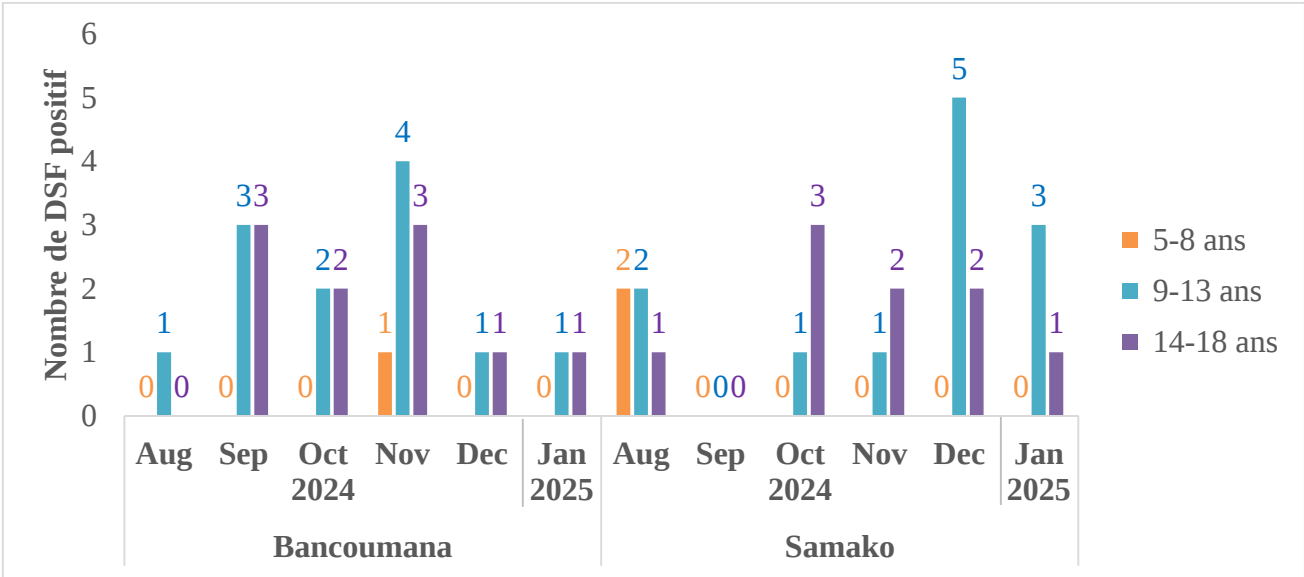


Figure 16: Variation mensuelle du nombre de DSF positif par tranche d'âge et par site d'étude

Sur un total de 3468 DSF réalisés dans les deux sites, **46** (1,3%) [0,81% - 1,80%] ont été positifs parmi lesquels **24** (52,2 %) ont été observés dans la tranche d'âge 9-13 ans, **19** (41,3 %) dans la tranche d'âge de 14 -18 ans et **3** (6,5%) dans la tranche d'âge de 5-8 ans. La positivité du DSF était donc plus fréquente chez les participants âgés de 9-18 ans.

Le pic du nombre de DSF pour Bancoumana a été observé en **novembre** avec 8 positifs et celui de Samako a été observé en **décembre** avec 7 positifs.



COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

6. Commentaires et Discussions

La présente étude avait pour objectif principal d'évaluer la performance du DSF par rapport au DMFA puis d'explorer, à travers le DSF, les paramètres de gorgement et la distribution de l'infectivité selon les tranches d'âge chez les enfants âgés de 5 à 18 ans dans les localités de Bancoumana et Samako.

Les résultats obtenus sont discutés ci-après au regard des données de la littérature, en mettant en évidence les implications méthodologiques et épidémiologiques.

6.1. Détermination de la performance du DSF par rapport au DMFA (Phase 1)

➤ Détermination du nombre de DSF vs DMFA réalisés

Au cours de la période allant de **novembre 2023** à **février 2024**, un total de **252 DSF** et **124 DMFA** ont été réalisés, soit en moyenne **63 DSF** contre **31 DMFA** par mois. Cela montre que le DSF a été réalisé environ deux fois plus fréquemment que le DMFA.

Le nombre plus élevé de DSF réalisés au cours de l'étude suggère que cette technique pourrait présenter des avantages opérationnels par rapport au DMFA dans les conditions de terrain. Le DMFA nécessite un prélèvement veineux, un transport rapide du sang, un dispositif de membrane artificielle, ainsi qu'un contrôle strict de la température et du temps entre le prélèvement et le gorgement. En revanche, le DSF est réalisé directement sur le volontaire, ce qui réduit les contraintes techniques et logistiques.

➤ Détermination du taux de gorgement de DSF vs DMFA

Les résultats ont montré que les taux de gorgement étaient très élevés et comparables entre les deux méthodes, avec **98,76 % pour le DSF** et **99,06 % pour le DMFA**, suggérant que, dans les conditions de l'étude, les moustiques présentaient une bonne capacité d'alimentation indépendamment de la technique utilisée.

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Coulibaly B et al. (2017)** et **Moreno et al (2022)** au Pérou qui ont également observé respectivement des taux de gorgement élevés et comparables pour les deux techniques (**95% pour le DSF** et **89,2% pour DMFA**) et (**87% pour le DSF** et **83,3% pour DMFA**) dans les conditions optimisées.

En revanche, nos résultats diffèrent de ceux rapportés par **Diallo et al.** (2008), qui ont observé des taux de gorgement plus faibles, notamment avec **le DMFA (76 % pour le DSF contre 53,5 % pour le DMFA)**.

Cela pourrait s'expliquer par des différences dans les conditions expérimentales, notamment l'âge et l'état physiologique des moustiques, connus pour influencer leur comportement alimentaire. Elle pourrait également être liée aux caractéristiques des moustiques utilisés, **Diallo et al.** ont travaillé avec des moustiques *Anopheles gambiae* s.s. de première génération (**F1**), dont les propriétés biologiques sont généralement plus proches de celles des populations sauvages.

Ces observations suggèrent que la capacité de gorgement des moustiques dépend non seulement de leurs caractéristiques génétiques intrinsèques, mais également de l'optimisation des paramètres expérimentaux de gorgement et du degré d'adaptation des moustiques aux conditions de laboratoire.

➤ Détermination du taux de survie de DSF vs DMFA

Les taux de survie des moustiques étaient similaires avec les deux méthodes, **(65,82% par DSF contre 64,89% par DMFA)** sans différence significative. Ces résultats suggèrent que ni le mode d'alimentation (direct sur la peau ou via membrane), ni les manipulations distinctes des deux techniques, n'influencent fortement la mortalité post-gorgement. Ces résultats sont similaires à ceux de (**Coulibaly B et al.**, 2017) (**Diallo et al.**, 2008) et **Moreno et al** (2022).

➤ Détermination du taux d'infection oocystique de DSF vs DMFA

Sur l'ensemble de nos expériences, nous avons trouvé **67 moustiques positifs** par DSF et **12 moustiques positifs** par DMFA.

Les résultats ont montré que le taux d'infection oocystique était significativement plus élevé avec **le DSF (0,68 %)** qu'avec **le DMFA (0,25 %)**.

Des tendances similaires ont été rapportées dans des études antérieures menées par **Coulibaly B et al.** (2017), **Diallo et al.** (2008) ainsi que **Bousema et al.** (2012) en Afrique de l'Ouest, avec des taux d'infection variant de **12,2%-28,4 %** pour le **DSF** contre **3,3%-15 %** pour le **DMFA**.

Ce phénomène pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs biologiques et techniques :

- **Le DSF reproduit plus fidèlement les conditions naturelles de transmission**, notamment la température corporelle et les signaux cutanés du volontaire, ce qui permet l'ingestion directe du sang et la préservation de la viabilité des gamétocytes.
- **Le prélèvement sanguin pour le DMFA peut altérer les gamétocytes**, surtout si le temps entre le prélèvement et le gorgement n'est pas parfaitement contrôlé.
- **La membrane artificielle** n'imité pas entièrement les propriétés mécaniques de la peau humaine (chaleur, odeurs, attractivité).

Ainsi, la méthode DMFA pourrait sous-estimer l'infectivité réelle des individus par rapport à la méthode DSF, qui reproduit mieux les conditions naturelles de transmission.

Ces résultats suggèrent que le DSF pourrait constituer une méthode de choix pour mesurer l'infectivité humaine réelle dans les études de transmission.

6.2. Détermination des paramètres entomologiques du DSF par site d'étude

Les taux mensuels de gorgement étaient très élevés dans les deux sites (>99 %), confirmant la bonne adaptation de *An. coluzzii* au gorgement direct sur la peau. Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par **Sacko. L** (2021), qui ont trouvé **99,37%**, démontrant une forte stabilité de ce paramètre dans la zone de Bancoumana et Samako. Cependant ils sont supérieurs à ceux de **Brickley et al** (2016) qui ont rapporté un taux de **95%**. Cette différence pourrait être liée à l'optimisation des conditions expérimentales, notamment le jeûne des moustiques, leur âge et les conditions environnementales de gorgement.

Les taux de survie observés dans les deux localités suivent également les tendances décrites par les travaux antérieurs, se situant autour de **69 %**. (**Fig.14**). Cela suggère que les conditions environnementales du laboratoire et les conditions de transport des moustiques depuis le site n'ont pas eu d'impact majeur sur la survie.

La stabilité de ces deux paramètres (gorgement et survie) constitue un atout pour la reproductibilité des essais de DSF.

Le taux global d'infection (**0,31%**) apparaît faible en valeur absolue, mais il reflète la réalité de la transmission naturelle communautaire où l'infectivité humaine est généralement faible et hétérogène en zone endémie. Ce résultat est comparable à ceux de **Brickley et al** (2016) et **Sacko L.** (2021) qui ont trouvé respectivement **0,4%** et **0,26%**.

Ce faible taux pourrait s'expliquer par la faible infectivité naturelle des individus en zone d'endémie, l'hétérogénéité des densités gamétocytaire et l'influence des facteurs immunitaires de l'hôte sur le développement du parasite chez le moustique.

Les pics de taux d'infection oocystique durant cette étude ont été observés à Bancoumana (**novembre 2024**) avec (**116 moustiques infectés**) et à Samako (**décembre 2024**) avec (**125 moustiques infectés**) (**fig.15**). Ceux-ci suggèrent une influence de la saisonnalité de la transmission du paludisme, correspondant à la période post-pluvieuse et corroborent avec les données de **Sacko L.** en 2021 qui ont observé les meilleurs taux d'infection oocystique en **novembre et décembre 2019**. Cette période correspond généralement à la fin de la saison des pluies et au début de la saison sèche, moment où la transmission du paludisme demeure élevée dans les zones soudano-sahéliennes du Mali.

6.3. Détermination du nombre de DSF positif par tranche d'âge et par site d'étude

Dans notre étude, seuls **1,3%** des DSF étaient positifs, suggérant que la transmission est concentrée chez une minorité d'individus.

Le nombre de DSF positifs montre une distribution similaire à celle des taux d'infection, avec un maximum en novembre à Bancoumana et en décembre à Samako.

Dans notre étude, la majorité des DSF positifs provenaient des participants âgés de 9 à 18 ans, avec une très faible contribution des 5 à 8 ans. Au sein des 9–18 ans, les enfants de **9–13 ans** et ceux de **14–18 ans** contribuaient de manière importante et globalement comparable au réservoir infectieux. Ces résultats corroborent ceux rapportés par **Sacko L. (2021)** et **Tangara M. (2021)**. En revanche, ils diffèrent de **Diallo et al. (2008)**, qui avaient observé une infectivité plus élevée chez les **4–9 ans**. Cette différence pourrait s'expliquer par l'évolution de l'immunité acquise avec l'âge, mais également par les modifications du contexte épidémiologique intervenues au cours des dernières années.

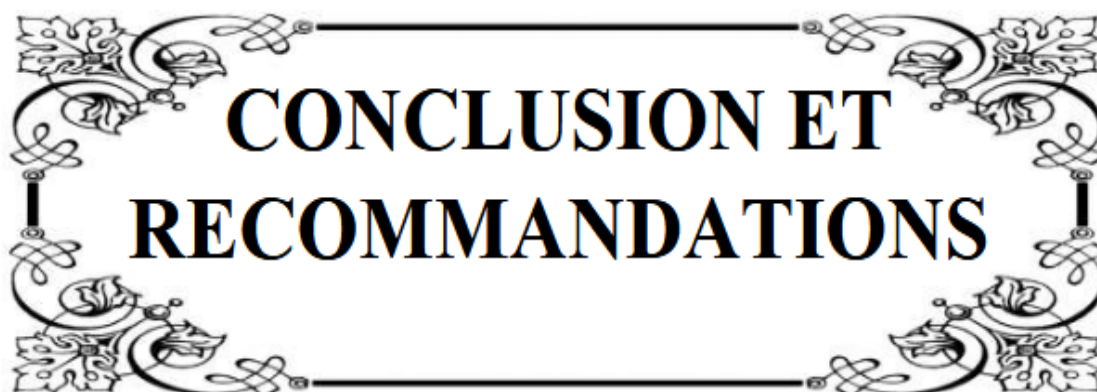
En effet, le déploiement d'interventions de lutte antipaludique telles que les moustiquaires imprégnées d'insecticide, l'amélioration de la prise en charge des cas et la chimioprévention saisonnière pourrait avoir modifié la dynamique de transmission et, par conséquent, la distribution de l'infectivité selon les groupes d'âge.

Globalement, ces observations suggèrent que cette tranche d'âge constitue la population la plus infectante pour les moustiques, ce qui a des implications majeures pour la conception des essais TBV, notamment en termes de ciblage des volontaires.

6.4. Limites de l'étude

Les limites de cette étude sont :

- **Limitation temporelle de la phase 2 de l'étude :** Cette phase n'a été conduite que sur une seule saison, ce qui ne permet pas d'évaluer les variations saisonnières de la transmission.
- L'absence de mesure de la densité gamétocytaire.
- L'utilisation des moustiques de laboratoire pourrait ne pas refléter totalement des conditions naturelles.
- La différence d'effectif entre le DSF et le DMFA pourrait avoir limité la puissance statistique de certaines comparaisons.



CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7. Conclusion

La mise au point de nouveaux outils de lutte contre le paludisme, notamment les vaccins bloquant la transmission (TBV), nécessite une compréhension approfondie des mécanismes de transmission ainsi qu'une évaluation rigoureuse des méthodes utilisées pour mesurer l'infectivité humaine aux moustiques. Dans cette perspective, cette étude avait pour objectif de comparer les performances du gorgement direct sur la peau (DSF) et du gorgement par membrane (DMFA), puis d'évaluer, à travers le DSF, les paramètres de transmission du paludisme chez les enfants âgés de 5 à 18 ans à Bancoumana et Samako.

Les résultats ont montré que les taux de gorgement et de survie des moustiques étaient comparables entre le DSF et le DMFA. En revanche, le taux d'infection oocystique était significativement plus élevé avec le DSF qu'avec le DMFA, suggérant une meilleure sensibilité du DSF pour mesurer l'infectivité humaine aux moustiques dans les conditions naturelles de transmission.

L'étude a également mis en évidence une transmission hétérogène du paludisme, concentrée chez une minorité d'individus, avec une prédominance des DSF positifs chez les enfants âgés de 9 à 18 ans, particulièrement dans les tranches d'âge de 9–13 ans et de 14–18 ans. En outre, des variations temporelles de la transmission ont été observées selon les tranches d'âge et les sites d'étude.

En définitive, ces résultats suggèrent que le DSF constitue un outil prometteur pour mesurer l'infectivité humaine aux moustiques dans les conditions naturelles de transmission et pourrait être utilisé dans l'évaluation des futurs vaccins bloquant la transmission du paludisme. Ils soulignent également le rôle important des enfants âgés de 9 à 18 ans dans le maintien de la transmission, ce qui pourrait orienter le choix des populations cibles lors des futurs essais de vaccins bloquant la transmission.

8.Recommandations

➤ Aux structures de recherche

- Privilégier les périodes de forte transmission pour la réalisation des séances de DSF dans les futurs essais de TBV.
- Cibler en priorité la tranche d'âge 9-18 ans pour les futurs essais des vaccins bloquant la transmission du paludisme.

➤ Au PNLP

- Elargir les priorités de surveillance et de prévention chez les enfants de plus de 5 ans.
- Renforcer la collaboration avec les structures de recherche pour évaluer les outils dans le cadre de la surveillance.

➤ Aux populations des sites d'étude

- Veiller au respect continu des protocoles de recherche

9. Références

1. Sylla FM, Camara FM. Thrombopénie au cours du paludisme grave chez les enfants hospitalisés à la clinique de la paix (Gabon). Guinée Médicale [Internet]. 22 août 2025 [cité 16 sept 2025] ;1(109) :33- 7. Disponible sur : <http://www.guineemedicale.org/index.php/guineemed/article/view/272>
2. Muh F, Erwina A, Fitriana F, Syahada JH, Cahya AD, Choe S, et al. *Plasmodium cynomolgi*: What Should We Know? Microorganisms. 2024 ;12(8) :1607.
3. Touré YT, Petrarca V, Traore SF, Coulibaly A, Maiga HM, Sankare O, et al. The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. Parassitologia [Internet]. 1998 [cité 23 juill 2025] ;40(4) :477- 511.
4. Tandina F, Doumbo O, Yaro AS, Traoré SF, Parola P, Robert V. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) and mosquito-borne diseases in Mali, West Africa. Parasit Vectors. 1 déc 2018 ;11(1) :467. doi :10.1186/s13071-018-3045-8
5. Djibril S. Dynamique des populations d'*Anopheles gambiae* sl, de *Anopheles funestus* et de *Plasmodium falciparum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguébougou. (Arrondissement central de Kati) [Thèse]. ISFRA; 2000.
6. World Health Organization. World malaria report 2024 [Internet]. Geneva : WHO ; 2024 [cité 7 juill 2025]. Disponible sur : <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2024>
7. Organisation Mondiale de la Santé. Rapport 2025 sur le paludisme dans le monde [Internet]. Genève: OMS ;2025 [Cité 19 déc 2025]. Disponible sur : https://www.who.int/fr/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2025?utm_source=chatgpt.com
8. La tribune du continent. Mali : 3 789 600 cas de paludisme confirmés en 2024 [Internet]. 2025 [cité 7 juill 2025]. Disponible sur : <https://latribuneducontinent.com/mali-3-789-600-cas-de-paludisme-confirmer-en-2024/>
9. World Health Organization. World malaria report 2023. Geneva: WHO; 2023. 356 p.
10. Brickley EB, Coulibaly M, Gabriel EE, Healy SA, Hume JCC, Sagara I, et al. Utilizing direct skin feeding assays for development of vaccines that interrupt malaria transmission: A systematic review of methods and case study. Vaccine. 21 nov 2016 ;34(48):5863- 70. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.10.027
11. GREENWOOD, Targett G, al. Do we still need a malaria vaccine? - 2009 - Parasite Immunol - Wiley Online Library [Internet]. 2009 [cité 23 juill 2025]. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3024.2009.01140.x>

12. Togo Boukary, 2021. Morbidité palustre dans la population de 6 mois à 65 ans de février 2018 à janvier 2020 à Bancoumana/Mali [Thèse]. Bamako (Mali) : USTTB ; 2021
13. Duffy PE, Patrick Gorres J. Malaria vaccines since 2000: progress, priorities, products. *Npj Vaccines*. 9 juin 2020 ;5(1) :48. doi :10.1038/s41541-020-0196-3
14. Coulibaly MB, Gabriel EE, Sinaba Y, Sylla D, Sacko A, Sylla L, et al. Optimizing Direct Membrane and Direct Skin Feeding Assays for *Plasmodium falciparum* Transmission-Blocking Vaccine Trials in Bancoumana, Mali. *Am J Trop Med Hyg*. 7 sept 2017 ;97(3) :719- 25. doi:10.4269/ajtmh.16-1000 PubMed PMID: 28722588; PubMed Central PMCID: PMC5590592.
15. Bousema T, Dinglasan RR, Morlais I, Gouagna LC, Warmerdam T van, Awono-Ambene PH, et al. Mosquito Feeding Assays to Determine the Infectiousness of Naturally Infected *Plasmodium falciparum* Gametocyte Carriers. *PLOS ONE*. 22 août 2012 ;7(8): e42821. doi: 10.1371/journal.pone.0042821
16. Soumare HM, Guelbeogo WM, van de Vegte-Bolmer M, van Gemert GJ, Soumanaba Z, Ouedraogo A, et al. Maintaining *Plasmodium falciparum* gametocyte infectivity during blood collection and transport for mosquito feeding assays in the field. *Malar J*. 20 avr 2021 ;20(1) :191. doi :10.1186/s12936-021-03725-y
17. Diallo M, Touré AM, Traoré SF, Niaré O, Kassambara L, Konaré A, et al. Evaluation and optimization of membrane feeding compared to direct feeding as an assay for infectivity. *Malar J*. 2008 ;7. doi :10.1186/1475-2875-7-248 PubMed PMID: 19055715.
18. Sagara I, Healy S, ... MATLI, 2018 undefined. Safety and immunogenicity of Pfs25H-EPA/Alhydrogel, a transmission-blocking vaccine against *Plasmodium falciparum* : a randomised, double-blind, comparator. *thelancet.com* [Internet]. [Cité 8 juill 2025]. Disponible sur : [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(18\)30344-X/abstract](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(18)30344-X/abstract)
19. Timinao L, Vinit R, Katusele M, Schofield L, Burkot TR, Karl S. Optimization of the feeding rate of *Anopheles farauti* s.s. colony mosquitoes in direct membrane feeding assays. *Parasit Vectors*. 7 juill 2021 ;14(1) :356. doi:10.1186/s13071-021-04842-y
20. Moreno M, Torres K, Tong C, García Castillo SS, Carrasco-Escobar G, Guedez G, et al. Insights into *Plasmodium vivax* Asymptomatic Malaria Infections and Direct Skin-Feeding Assays to Assess Onward Malaria Transmission in the Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. juill 2022 ;107(1) :154- 61. doi :10.4269/ajtmh.21-1217 PubMed PMID: 35895359; PubMed Central PMCID: PMC9294676.
21. Carnevale P, Robert V. Les anophèles : biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle. 2009.

22. Lehmann T, Dao A, Yaro AS, Adamou A, Kassogue Y, Diallo M, et al. Aestivation of the African Malaria Mosquito, *Anopheles gambiae* in the Sahel. *Am J Trop Med Hyg.* sept 2010 ;83(3):601- 6. doi :10.4269/ajtmh.2010.09-0779 PubMed PMID: 20810827; PubMed Central PMCID: PMC2929058.
23. Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V. Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine Mal Infect.* 1 mars 2007 ;37(3) :153- 61. doi:10.1016/J.MEDMAL.2006.10.009 PubMed PMID: 17306484.
24. Koita OA, Sangaré L, Sango HA, Dao S, Keita N, Maiga M, et al. Effect of Seasonality and Ecological Factors on the Prevalence of the Four Malaria Parasite Species in Northern Mali. *J Trop Med.* 2012; 2012:367160. doi:10.1155/2012/367160 PubMed PMID: 22529864; PubMed Central PMCID: PMC3316987.
25. Howick VM, Russell AJC, Andrews T, Heaton H, Reid AJ, Natarajan K, et al. The Malaria Cell Atlas : Single parasite transcriptomes across the complete *Plasmodium* life cycle. *Science.* 23 août 2019;365(6455): eaaw2619. doi:10.1126/science. aaw2619
26. Sogodogo D. Paludisme et protection par le trait drépanocytaire et les anticorps anti-PfEMP-1/VarO dans une cohorte d'enfants à Kénieroba, Commune rurale de Bancoumana, Mali [Thèse]. [Internet]. Bamako (Mali) : USTTB ; 2023 [cité 24 juill 2025]. Disponible sur : <https://bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/6614/23P32.pdf?sequence=1>
27. Alemayehu A. Biology and epidemiology of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocyte carriage : implication for malaria control and elimination. *Parasite Epidemiol Control* [Internet]. 2023 [cité 24 juill 2025] ;21 : e00295. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405673123000120>
28. Koné J. Culture des gamétocytes de *P. falciparum* et infection des moustiques au laboratoire d'immunogénétique du MRTC/FMOS-FAPH/USTTB de Bamako : effet de l'HbS et de l'HbC [Thèse]. Bamako (Mali): USTTB; 2021.
29. Andrews M, Baum J, Gilson PR, Wilson DW. Bottoms up! Malaria parasite invasion the right way around. *Trends Parasitol.* 1 déc 2023 ;39(12) :1004- 13. doi :10.1016/j.pt.2023.09.010 PubMed PMID : 37827961.
30. Taméga T. Efficacité de l'artésunate-amodiaquine et de l'artéméther-luméfántrine-amodiaquine utilisées seules ou combinées avec une unique faible dose de primaquine pour réduire la transmission du paludisme à *Plasmodium falciparum* à Ouéléssebougou, Mali. [Thèse] [Internet] : USTTB ; 2024 [cité 23 juill 2025]. Disponible sur : <https://bibliosante.ml/handle/123456789/14266>
31. Organisation Mondiale de la Santé. Entomologie du Paludisme et Lutte Antivectorielle Guide du Participant. Malte OMS. 2014.

32. Detinova TS. Age grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. [Internet]. 1962 [cité 26 déc 2025]. Disponible sur : <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19622902065>
33. Klein TA, Lima JB, Tada MS. Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes to *Plasmodium falciparum* in Rondonia, Brazil. [Internet]. 1991 [cité 18 juill 2025]. Disponible sur : <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19922091668>
34. Bonnet S, Gouagna C, Safeukui I, Meunier JY, Boudin C. Comparison of artificial membrane feeding with direct skin feeding to estimate infectiousness of *Plasmodium falciparum* gametocyte carriers to mosquitoes. Trans R Soc Trop Med Hyg [Internet]. 2000 [cité 10 févr 2026] ;94(1) :103- 6. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0035920300904565>
35. Gaye A, Bousema T, Libasse G, Ndiath MO, Konaté L, Jawara M, et al. Infectiousness of the human population to *Anopheles arabiensis* by direct skin feeding in an area hypoendemic for malaria in Senegal. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2015 [cité 10 févr 2026] ;92(3):648. Disponible sur : <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4350567/>
36. Sacko L. Mesure de la Transmission du Paludisme au niveau Communautaire par la technique de gorgement direct de *Anopheles coluzzii* sur la peau à Bancoumana, Mali [Internet]. 2021 [cité 22 juill 2025]. Disponible sur : <https://bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/4596/21P37.pdf?sequence=1>
37. Tangara M. Eude de la transmission du paludisme a *plasmodium falciparum* mesure par gorgement direct sur la peau des volontaires de 5 ans et plus à Bancoumana et Donéguébougou au Mali. 2021.
38. Wu Y, Ellis RD, Shaffer D, Fontes E, Malkin EM, Mahanty S, et al. Phase 1 trial of malaria transmission blocking vaccine candidates Pfs25 and Pvs25 formulated with montanide ISA 51. PloS One [Internet]. 2008 [cité 10 févr 2026] ;3(7): e2636. Disponible sur : <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002636>
39. Cheru L, Wu Y, Diouf A, Moretz SE, Muratova OV, Song G, et al. The IC50 of anti-Pfs25 antibody in membrane-feeding assay varies among species. Vaccine [Internet]. 2010 [cité 10 févr 2026] ;28(27) :4423- 9. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10005426>
40. Graves PM, Burkot TR, Carter R, Cattani JA, Lagog M, Parker J, et al. Measurement of malarial infectivity of human populations to mosquitoes in the Madang area, Papua New Guinea. Parasitology [Internet]. 1988 [cité 21 juill 2025] ;96(2) :251 - 63. Disponible sur : <https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/measurement-of-malarial-infectivity-of-human-populations-to-mosquitoes-in-the-madang-area-papua-new-guinea/97E7433EF6468335C5A8BE7F1F119317>

41. de Jong RM, Tebeje SK, Meerstein-Kessel L, Tadesse FG, Jore MM, Stone W, et al. Immunity against sexual stage *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* parasites. *Immunol Rev.* 2020;293(1):190- 215. doi:10.1111/imr.12828
42. Boudin C, Olivier M, Chiron JP, Ambroise-Thomas P. High Human Malarial Infectivity to Laboratory-Bred.
43. Bayogo HS. Évaluation de l'innocuité, la tolérance et immunogénicité du vaccin pfs230D1EPA/Matrix -MTM, un vaccin bloquant la transmission de *Plasmodium falciparum* chez des adultes à Sotuba, MALI [Thèse] [Internet]. USTTB ; 2024 [cité 22 juill 2025]. Disponible sur : <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/13526>
44. Engers HD. Situation et perspectives en prophylaxie antipaludique.
45. Dumay K. Les avancées de la recherche dans l 'élaboration d 'un vaccin contre le paludisme. 2003.
46. Sinaba Y. Optimisation des essais de gorgement de *Anopheles gambiae* en prelude d'une évaluation des vaccins bloquant la transmission du paludisme Bancoumana, Mali. [Thèse]. Bamako (Mali) : USTTB 2015.
47. van Dijk MR, Janse CJ, Thompson J, Waters AP, Braks JA, Dodemont HJ, et al. A central role for P48/45 in malaria parasite male gamete fertility. *Cell* [Internet]. 2001 [cité 22 juill 2025] ;104(1) :153- 64. Disponible sur : [https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(01\)00199-4](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(01)00199-4)
48. Kaslow DC. Transmission-blocking vaccines: Uses and current status of development. *Int J Parasitol.* 1 févr 1997 ; Australian and New Zealand Societies for Parasitology Scientific Meeting27(2):183- 9. doi:10.1016/S0020-7519(96)00148-8
49. Amani A, Mboussou F, Impouma B, Cabore J, Moeti MR. Introduction and rollout of malaria vaccines in Cameroon and Burkina Faso : early lessons learned. *Lancet Glob Health* [Internet]. 2024 [cité 23 juill 2025];12(5): e740- 1. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X\(24\)00101-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(24)00101-3/fulltext)
50. Datto MS, Dicko A, Tinto H, Ouédraogo JB, Hamaluba M, Olotu A, et al. Safety and efficacy of malaria vaccine candidate R21/Matrix-M in African children: a multicentre, double-blind, randomised, phase 3 trial. *The Lancet* [Internet]. 2024 [cité 23 juill 2025];403(10426):533- 44. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(23\)02511-4/fulltext?s=08](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(23)02511-4/fulltext?s=08)
51. Dicko A, Ouedraogo JB, Zongo I, Sagara I, Cairns M, Yerbanga RS, et al. Seasonal vaccination with RTS, S/AS01E vaccine with or without seasonal malaria chemoprevention in children up to the age of 5 years in Burkina Faso and Mali: a double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2024 [cité 23 juill 2025];24(1):75- 86. Disponible sur : [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(23\)00368-7/fulltext?uuid=uuid%3A75274775-2117-415a-b66b-af35556dc7f5](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(23)00368-7/fulltext?uuid=uuid%3A75274775-2117-415a-b66b-af35556dc7f5)

52. World Health Organization. World malaria report 2021. Geneva: WHO; 2021. 322 p.
53. Reinke S, Pantazi E, Chappell GR, Sanchez-Martinez A, Guyon R, Fergusson JR, et al. Emulsion and liposome-based adjuvanted R21 vaccine formulations mediate protection against malaria through distinct immune mechanisms. *Cell Rep Med* [Internet]. 2023 [cité 23 juill 2025] ;4(11). Disponible sur: [https://www.cell.com/cell-reports-medicine/fulltext/S2666-3791\(23\)00422-6](https://www.cell.com/cell-reports-medicine/fulltext/S2666-3791(23)00422-6)
54. El-Moamly AA, El-Sweify MA. Malaria vaccines: the 60-year journey of hope and final success—lessons learned and future prospects. *Trop Med Health* [Internet]. 2023 [cité 10 févr 2026] ;51(1):29. Disponible sur : <https://link.springer.com/article/10.1186/s41182-023-00516-w>
55. Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, Laurens MB, Kone AK, Guindo AB, et al. Safety and immunogenicity of an AMA1 malaria vaccine in Malian children: results of a phase 1 randomized controlled trial. *PloS One* [Internet]. 2010 [cité 10 févr 2026] ;5(2): e9041. Disponible sur : <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0009041>
56. El Sahly HM, Patel SM, Atmar RL, Lanford TA, Dube T, Thompson D, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant nonglycosylated erythrocyte binding antigen 175 Region II malaria vaccine in healthy adults living in an area where malaria is not endemic. *Clin Vaccine Immunol* [Internet]. 2010 [cité 10 févr 2026] ;17(10) :1552- 9. Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/cvi.00082-10>
57. Mordmüller B, Szywon K, Greutelaers B, Esen M, Mewono L, Treut C, et al. Safety and immunogenicity of the malaria vaccine candidate GMZ2 in malaria-exposed, adult individuals from Lambarene, Gabon. *Vaccine* [Internet]. 2010 [cité 10 févr 2026] ;28(41) :6698- 703. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10011072>
58. Tajudeen YA, Oladipo HJ, Yusuff SI, Abimbola SO, Abdulkadir M, Oladunjoye IO, et al. A landscape review of malaria vaccine candidates in the pipeline. *Trop Dis Travel Med Vaccines*. 1 août 2024 ;10(1) :19. doi :10.1186/s40794-024-00222-3
59. Brod F, Miura K, Taylor I, Li Y, Marini A, Salman AM, et al. Combination of RTS, S and Pfs25-IMX313 induces a functional antibody response against malaria infection and transmission in mice. *Front Immunol* [Internet]. 2018 [cité 6 oct 2025] ;9 :2780. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02780/full>
60. McCaffery JN, Fonseca JA, Singh B, Cabrera-Mora M, Bohannon C, Jacob J, et al. A multi-stage *Plasmodium vivax* malaria vaccine candidate able to induce long-lived antibody responses against blood stage parasites and robust transmission-blocking activity. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2019 [cité 6 oct 2025] ;9 :135. Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2019.00135/full>

61. Kobylinski KC, Tiphara P, Wamaket N, Chainarin S, Kullasakboonsri R, Sriwichai P, et al. Ivermectin metabolites reduce *Anopheles* survival. *Sci Rep* [Internet]. 2023 [cité 10 févr 2026] ;13(1) :8131. Disponible sur : <https://www.nature.com/articles/s41598-023-34719-2>
62. Seufi AM, Galal FH. Role of *Culex* and *Anopheles* mosquito species as potential vectors of rift valley fever virus in Sudan outbreak, 2007. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2010 [cité 19 août 2025] ;10(1) :65. Disponible sur : <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2334-10-65>
63. Ericsson CD, Steffen R, Isaäcson M. Viral hemorrhagic fever hazards for travelers in Africa. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2001 [cité 19 août 2025] ;33(10) :1707- 12. Disponible sur : <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/33/10/1707/391590>
64. Rek J, Blanken SL, Okoth J, Ayo D, Onyige I, Musasizi E, et al. Asymptomatic School-Aged Children Are Important Drivers of Malaria Transmission in a High Endemicity Setting in Uganda. *J Infect Dis*. 15 août 2022;226(4) :708- 13. doi :10.1093/infdis/jiac169

10. Annexes

Annexe 1 : Procédure de la goutte épaisse

➤ Principe :

C'est une technique de concentration permettant un repérage rapide des parasites dans le sang et l'identification des différentes espèces (frottis sanguin).

➤ Matériels

1. Deux (2) lames porte-objet propres et bien dégraissées ;
2. Alcool 70°, colorant de giemsa pur, coton hydrophile sec, eau tamponnée (PH=7,2), boîte à lames, chiffon de coton propre, crayon noir à mine grasse ou marqueur indélébile, stylo à bille, bacs de coloration, éprouvette graduées, râtelier, chronomètre, huile d'immersion, registre ou formulaire de notification, un compteur manuel et gant.

➤ Technique de la goutte épaisse

Après avoir noté les renseignements relatifs sur le formulaire ou le registre approprié, ainsi que l'identité du patient sur la lame, réaliser la goutte comme suite :

-Mélanger lentement le sang et l'anticoagulant.

-A l'aide d'une micropipette, déposer 10µl de sang sur la lame propre dégraissée ;

-Tenir la lame supérieure par les bords ;

-Placer le coin de l'autre lame au centre de la goutte de sang ;

-Etendre légèrement la surface de la goutte par des mouvements spirales appuyés de la lame ;

-Assurer cette défibrination mécanique pendant quelques secondes et étendre la goutte sur environ 1 cm de diamètre ;

-Laisser la préparation à plat, à l'abri de la poussière, de la chaleur et des mouches pendant deux heures en zone sahélienne. Respecter ce long temps de séchage sinon il y a risque de décollement de la préparation lors de la coloration.

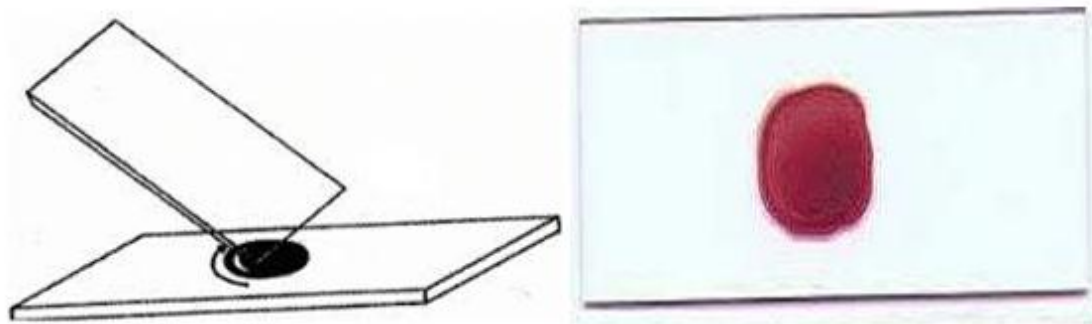


Figure 17: Technique de la goutte épaisse.

➤ **Technique de coloration de Giemsa.**

C'est une méthode de coloration classique employée en routine pour la coloration des étalements sanguins et pour le diagnostic du paludisme.

Toujours maintenir la bouteille bien fermée dans un endroit frais, à l'abri de la lumière solaire directe. Les bouteilles en verre blanc peuvent être recouvertes d'une enveloppe de papier noir épais pour les protéger de la lumière.

-Fixer le frottis mince en le tapotant doucement avec un tampon de coton imbibé de méthanol, ou en le trempant dans un récipient de méthanol pendant quelques secondes.

-Préparer la solution de Giemsa à 3 ou 5 dans l'eau tamponnée (PH 7,2) et bien mélanger le colorant

-Verser doucement le colorant dans la bague jusqu'à ce que la lame soit entièrement recouverte - Laisser colorer pendant 30 à 45 mn pour 30 (15mn pour 10), à l'abri de la lumière solaire et de la poussière ;

-Les lames sont ensuite rincées et séchées sur un râtelier.

➤ **Aspects**

La lecture se fait au microscope à l'objectif 100 à l'huile d'immersion

-Le fond doit être propre, exempt de débris, coloré en bleu ;

-Les noyaux des leucocytes sont en violet foncé ;

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

-Les parasites du paludisme sont bien définis, avec une chromatine rouge foncé et un cytoplasme bleu pale.

➤ **Méthodes de numération des parasites du paludisme dans les gouttes épaisses Parasites par μl (= mm^3)**

On trouvera ci-dessous une méthode pratique de précision suffisante. Elle consiste à dénombrer les parasites par μl de sang dans un frottis épais, par rapport à un nombre prédéterminé de leucocytes. On prend comme norme une moyenne de 7 500 leucocytes par μl . Malgré l'imprécision due aux variations du nombre de leucocytes parmi des personnes en bonne santé et aux variations encore plus grandes observées chez les malades, cette valeur permet des comparaisons valables. Avant de commencer à compter, on examinera l'équivalent de 0,25 μl de sang (environ 100 champs, avec un oculaire 10X) et un objectif à immersion dans l'huile 100X dans le frottis épais pour déterminer l'espèce de parasite et les stades présents.

Nombre de parasites X 7 500

----- = **parasites par μl**

Nombre de leucocytes

Annexe 2 : Procédure de Test de Diagnostic Rapide (TDR) :

1. Le sang veineux est prélevé dans un tube (EDTA).
2. À l'aide d'une micropipette ou du dispositif fourni avec le kit, on prélève le volume de sang recommandé (généralement 5 à 10 μL)
3. **Dépôt sur la cassette du TDR**

La quantité de sang recommandée (souvent 5 à 10 μL) est déposée dans le puits de la cassette.

4. Ajout du tampon (buffer)

-Quelques gouttes de solution tampon sont ajoutées dans le puits prévu à cet effet.

-Le tampon permet au sang de migrer le long de la membrane.

5. Migration et réaction immunologique

-Si le sang contient des antigènes de *Plasmodium* (par exemple **HRP2** pour *Plasmodium falciparum* ou **pLDH**), ceux-ci se lient à des anticorps marqués présents sur la bandelette.

-Le complexe migre et est capturé par d'autres anticorps, formant une **bande colorée**.

6. Lecture du résultat

Après le temps indiqué par le fabricant (généralement 15 à 20 minutes), on interprète le test :

-**Une bande contrôle (C)** : le test est valide.

-**Une bande contrôle + une bande test (T)** : test positif.

-**Absence de bande contrôle** : test invalide, à refaire.

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : BAGAYOKO

Prénom : Aboubacar

Titre : Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

Année de soutenance : 2026

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMOS/FAPH de Bamako, Mali.

Secteurs d'intérêt : Santé publique, paludisme et Epidémiologie.

Résumé :

Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique en Afrique subsaharienne. Les vaccins bloquant la transmission (Transmission Blocking Vaccines, TBV) représentent une stratégie prometteuse pour réduire la transmission de *Plasmodium falciparum*, mais leur évaluation requiert des méthodes fiables de mesure de l'infectivité humaine aux moustiques vecteurs.

Cette étude visait à comparer les performances du gorgement direct sur la peau (Direct Skin Feeding, DSF) et du gorgement direct par membrane (Direct Membrane Feeding Assay, DMFA), puis à caractériser la transmission du paludisme chez les enfants âgés de 5 à 18 ans à Bancoumana et Samako, au Mali.

Il s'agissait d'une étude longitudinale réalisée en deux phases. La première (novembre 2023 à février 2024) a comparé les performances du DSF et du DMFA. La seconde (août 2024 à janvier 2025) a évalué les paramètres de transmission du paludisme par DSF à l'aide de moustiques *Anopheles coluzzii* élevés en insectarium.

Au cours de la phase comparative, les taux de gorgement et de survie des moustiques étaient similaires entre les deux méthodes. En revanche, le taux d'infection oocystique était significativement

plus élevé avec le DSF qu'avec le DMFA (0,68 % contre 0,25 %), indiquant une sensibilité supérieure du DSF pour mesurer l'infectivité humaine aux moustiques. Lors de la seconde phase, le taux global d'infection oocystique était de 0,31 %, avec 46 DSF positifs sur 3 468 réalisés (1,3 %). Les taux d'infection étaient de 0,27 % à Bancoumana et de 0,41 % à Samako. Les enfants âgés de 9 à 18 ans représentaient plus de 90 % des individus infectants, et la transmission était plus élevée entre novembre et décembre dans les deux sites.

En conclusion, le DSF s'est révélé plus sensible que le DMFA pour mesurer l'infectivité humaine aux moustiques dans les conditions naturelles de transmission. Les résultats mettent en évidence le rôle majeur des enfants de 9 à 18 ans dans le maintien de la transmission de *Plasmodium falciparum* et soutiennent l'utilisation du DSF pour l'évaluation des futurs vaccins bloquant la transmission.

Mots-clés : Paludisme, *Plasmodium falciparum*, *Anopheles coluzzii*, DSF, DMFA, infectivité humaine, transmission, vaccin bloquant la transmission, Mali.

IDENTIFICATION

Name: BAGAYOKO

First name: Aboubacar

Title : Measurement of human infectivity to *Anopheles coluzzii* mosquitoes by direct skin feeding and membrane feeding in preparation for evaluation a malaria transmission-blocking vaccine in Bancoumana and Samako, Mali

Year of defense: 2026

City of defense: Bamako

Place of deposit: Library of the FMOS/FAPH, Bamako, Mali.

Sectors of interest: Public Health, Malaria and Epidemiology

Abstract:

Malaria remains a major public health issue in sub-Saharan Africa. Transmission-blocking vaccines (TBVs) are a promising strategy to reduce the transmission of *Plasmodium falciparum*, but evaluating them requires reliable methods to measure human infectivity to mosquito vectors. This study aimed to compare the performance of direct skin feeding (DSF) and direct membrane feeding assays (DMFA), and then to characterize malaria transmission in children aged 5 to 18 in Bancoumana and Samako, Mali. It was a longitudinal study carried out in two phases. The first phase (November 2023 to February 2024) compared the performance of DSF and DMFA. The second phase (August 2024 to January 2025) assessed malaria transmission parameters using DSF with *Anopheles coluzzii* mosquitoes reared in the insectary.

During the comparative phase, mosquito feeding and survival rates were similar between the two methods. However, the oocyst infection rate was significantly higher with the DSF than with the DMFA (0.68% versus 0.25%), indicating that DSF is more sensitive for measuring human infectivity to mosquitoes. In the second phase, the overall oocyst infection rate was 0.31%, with 46 positive DSFs out of 3,468 performed (1.3%). Infection rates were 0.27% in Bancoumana and 0.41% in Samako. Children aged 9 to 18 accounted for over 90% of infective individuals, and transmission was higher between November and December at both sites.

Mesure de l'infectivité humaine aux moustiques *Anopheles coluzzii* par gorgement direct sur la peau et par membrane en prélude à l'évaluation d'un vaccin bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana et Samako, Mali

In conclusion, the DSF proved to be more sensitive than the DMFA for measuring human infectivity to mosquitoes under natural transmission conditions. The results highlight the major role of children aged 9 to 18 in sustaining *Plasmodium falciparum* transmission and support the use of DSF for evaluating future transmission-blocking vaccines.

Keywords: Malaria, *Plasmodium falciparum*, *Anopheles coluzzii*, Direct Skin Feeding, Direct Membrane Feeding Assay, human infectivity, malaria transmission, transmission-blocking vaccine, Mali.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

Je le jure !