

Ministère des Enseignements  
Secondaire, Supérieur et de la  
Recherche Scientifique

République du Mali  
**Un Peuple - Un But - Une Foi**



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

**Année universitaire 2008- 2009**

Thèse N °...../M

### **TITRE**

**Impact de l'infection à *Plasmodium falciparum* sur le taux d'éclosion des œufs et le développement larvaire chez *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis***

### **THESE**

**Présentée et soutenue publiquement le 15/11/2008  
Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-  
stomatologie**

**Par**

***M. Amadou Guindo***

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

### **JURY**

Président : **Professeur Sékou Fantamady Traoré**

Membre: **Docteur Mahamadou Diakité**

Co-directeur: **Docteur Mamadou B. Coulibaly**

Directeur : **Docteur Abdoulaye M. Touré**

# LISTE ACADEMIQUE

## FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2008-2009**

### ADMINISTRATION

DOYEN: **Anatole TOUNKARA** - Professeur  
 1<sup>er</sup> ASSESSEUR: **Drissa DIALLO** - MAITRE DE CONFERENCES  
 2<sup>ème</sup> ASSESSEUR: **Sékou SIDIBE** - MAITRE DE CONFERENCES  
 SECRETAIRE PRINCIPAL: **Yénimégue Albert DEMBELE** - Professeur  
 AGENT COMPTABLE: **Mme COULIBALY Fatoumata TALL** - CONTROLEUR DES FINANCES

### PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie - Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. Keita	Pédiatrie
Mr Siné Bayo	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya Simaga	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boulkassoum Haidara	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

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

#### ▪ D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

##### 1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique

Mr Alhousseini Ag MOHAMED  
 Mme SY Assitan SOW  
 Mr Salif DIAKITE  
 Mr Abdoulaye DIALLO  
 Mr Djibril SANGARE  
 Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP

## 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdoulaye DIALLO  
 Mr Gangaly DIALLO  
 Mr Mamadou TRAORE  
 Mr Filifing SISSOKO  
 Mr Sekou SIDIBE  
 Mr Abdoulaye DIALLO  
 Mr Tieman COULIBALY  
 Mme TRAORE J. THOMAS  
 Mr Mamadou L. DIOMBANA  
 Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE  
 Mr Nouhoum ONGOÏBA  
 Mr Sadio YENA  
 Mr Youssouf COULIBALY

## 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA  
 Mr Samba Karim TIMBO  
 Mme TOGOLA Fanta KONIPO  
 Mr Zimogo Zié SANOGO  
 Mme Djenèba Doumbia  
 Mr Zanafon OUATTARA  
 Mr Adama SANGARE  
 Mr Sanoussi BAMANI  
 Mr Doulaye SACKO  
 Mr Ibrahim ALWATA  
 Mr Lamine TRAORE  
 Mr Mady MAKALOU  
 Mr Aly TEMBELY  
 Mr Niani MOUNKORO  
 Mr Tiémoko D. COULIBALY  
 Mr Souleymane TOGORA  
 Mr Mohamed KEITA  
 Mr Bouraïma MAIGA  
 Mr yousouf SOW  
 Mr Djibo Mahamane DIANGO  
 Mr Moustapha TOURE  
 Mr Mamadou DIARRA  
 Mr Boubacary GUINDO

ORL  
 Gynéco-Obstétrique  
 Gynéco-Obstétrique  
 Anesthésie-Réanimation  
 Chirurgie Générale, **Chef de D.E.R**  
 Chirurgie Générale

Ophthalmologie  
 Chirurgie Viscérale  
 Gynéco-Obstétrique  
 Chirurgie Générale  
 Orthopédie-Traumatologie  
 Anesthésie-Réanimation  
 Orthopédie-Traumatologie  
 Ophthalmologie  
 Stomatologie  
 Gynéco-Obstétrique  
 Anatomie & Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie-Réanimation

Gynéco-Obstétrique  
 ORL  
 ORL  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie / Réanimation  
 Urologie  
 Orthopédie- Traumatologie  
 Ophthalmologie  
 Ophthalmologie  
 Orthopédie - Traumatologie  
 Ophthalmologie  
 Orthopédie/ Traumatologie  
 Urologie  
 Gynécologie/ Obstétrique  
 Odontologie  
 Odontologie  
 ORL  
 Gynéco- Obstétrique  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie - Réanimation  
 Gynécologie  
 Ophthalmologie  
 ORL

## ▪ D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

### 1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO  
 Mr Amadou DIALLO

Chimie Générale & Minérale  
 Biologie

Mr Moussa HARAMA  
 Mr Ogobara DOUMBO  
 Mr Yénimégué Albert DEMBELE  
 Mr Anatole TOUNKARA  
 Mr Bakary M. CISSE  
 Mr Abdourahamane S. MAÏGA  
 Mr Adama DIARRA  
 Mr Mamadou Koné

Chimie Organique  
 Parasitologie- Mycologie  
 Chimie Organique  
 Immunologie  
 Biochimie  
 Parasitologie  
 Physiologie  
 Physiologie

## 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE  
 Mr Flabou BOUGOUDOGO  
 Mr Amagana DOLO  
 Mr Mahamadou CISSE  
 Mr Sékou F. M. TRAORE  
 Mr Abdoulaye DABO  
 Mr Ibrahim I. MAÏGA

Histoembryologie  
 Bactériologie- Virologie  
 Parasitologie **Chef de D.E.R**  
 Biologie  
 Entomologie médicale  
 Malacologie, Biologie Animale  
 Bactériologie - Virologie

## 3. MAÎTRES ASSISTANTS

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

Chimie Organique  
 Hématologie  
 Parasitologie - Mycologie  
 Biophysique  
 Biologie  
 Immunologie  
 Bactériologie- Virologie  
 Anatomie- Pathologie  
 Entomologie Moléculaire Médicale  
 Biologie/ Parasitologie  
 Entomologie Moléculaire Médicale  
 Parasitologie- Mycologie  
 Entomologie Moléculaire Médicale

## 4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOKO  
 Mr Boubacar TRAORE  
 Mr BoKary Y. Sacko  
 Mr Mamadou Ba  
 Mr Moussa FANE  
 Mr Blaise DACKOOU

Entomologie Moléculaire Médicale  
 Immunologie  
 Biochimie  
 Biologie, Parasitologie Entomologie médicale  
 Parasitologie Entomologie  
 Chimie Analytique

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

## 1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE  
 Mr Mahamane MAÏGA  
 Mr Baba KOUMARE

Cardiologie  
 Néphrologie  
 Psychiatrie, **Chef de D.E.R.**

Mr Moussa TRAORE  
 Mr Issa TRAORE  
 Mr Hamar A. TRAORE  
 Mr Dapa Aly DIALLO  
 Mr Moussa Y. MAIGA  
 Mr Somita KEITA  
 Mr Boubakar DIALLO  
 Mr Toumani SiDIBE

Neurologie  
 Radiologie  
 Médecine Interne  
 Hématologie  
 Gastro-entérologie-Hépatologie  
 Dermato-Léprologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie

## 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA  
 Mr Abdel Kader TRAORE  
 Mr Siaka SIDIBE  
 Mr Mamadou DEMBELE  
 Mr Mamady KANE  
 Mr Saharé FONGORO  
 Mr Bakoroba COULIBALY  
 Mr Bou DIAKITE  
 Mr Bougouzié SANOGO  
 Mme SIDIBE Assa TRAORE  
 Mr Adama D. KEITA  
 Mr Sounkalo DAO

Pneumo-Phtisiologie  
 Médecine Interne  
 Radiologie  
 Médecine Interne  
 Radiologie  
 Néphrologie  
 Psychiatrie  
 Psychiatrie  
 Gastro-entérologie  
 Endocrinologie  
 Radiologie  
 Maladies Infectieuses

## 3. MAITRES ASSISTANTS

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

Pédiatrie  
 Dermatologie  
 Maladies Infectieuses  
 Cardiologie  
 Cardiologie  
 Psychiatrie  
 Médecine interne  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Dermatologie  
 Cardiologie  
 Hépato-Gastro-Entérologie  
 Hépato-Gastro-Entérologie  
 Pneumologie  
 Psychologie  
 Neurologie  
 Radiologie

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

#### 1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE  
 Mr Ousmane DOUMBIA  
 Mr Elimane MARIKO

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

**2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Drissa DIALLO	Matières médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît Yaranga KOUMARE	Chimie analytique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie

**3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie
Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Saibou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire
Mr Yaya COULIBALY	Législation

- **D.E.R. SANTE PUBLIQUE**

**1. PROFESSEUR**

Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique, <b>Chef de D.E.R</b>
--------------------	--------------------------------------

**2. MAÎTRE DE CONFERENCES**

Mr Moussa A. MAÏGA	Santé Publique
Mr Jean TESTA	Sante publique
Mr Mamadou Souncalo TRAORE	Sante Publique

**3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique
Mr Mamadou Souncalo TRAORE	Santé Publique
Mr Hammadoun Aly SANGO	Santé Publique
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Samba DIOP	Anthropologie Médicale
Mr Akory AG IKNANE	Santé Publique

**4. ASSISTANTS**

Mr Oumar THIERO	Biostatistique
Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale

- **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition

Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA  
Mr Mahamadou TRAORE  
Mr Yaya COULIBALY  
Mr Lassine SIDIBE

Hygiène du Milieu  
Génétique  
Législation  
Chimie-Organique

▪ **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA  
Pr. Babacar FAYE  
Pr. Lamine GAYE  
Pr. Mounirou CISSE  
Pr. Amadou Papa DIOP

Bromatologie  
Pharmacodynamie  
Physiologie  
Hydrologie  
Biochimie





# DEDICACE

## Dédicaces

Je dédie ce travail :

□ **A Dieu :**

Le clément, le tout Miséricordieux, Seigneur des mondes, que le salut d'ALLAH soit sur notre prophète Mohammed, le dernier des messagers ainsi que sur sa famille honorable et pure et ses compagnons nobles et élus.

Ce travail est le tien. Tu as guidé et surveillé mes pas jusqu'à ce jour je n'avais aucune idée de ce garçon que je suis aujourd'hui quand j'allais à l'école pour la première fois. Toi tu le savais car tu m'as déjà tracé un chemin que j'ai suivi, que je suis et que je suivrai.

Merci de m'avoir maintenu en bonne santé et de m'avoir permis d'achever Cette œuvre.

□ **A mes parents :**

**A mon père Nouhoum Guindo;**

Papa, ta bonté, ta profonde humilité et ton amour d'autrui font de toi cet homme respecté que j'admire tant et tellement.

Trouve en ce travail une ébauche à toutes tes aspirations.

Tu nous as appris le sens de la fierté et de la dignité en toute circonstance mais aussi et surtout le respect de son prochain.

Comme on ne saura jamais remercier assez un père, je préfère prier pour toi. Je me rappelle encore avec beaucoup d'émotion que tu m'avais dit avoir confiance en moi quand je venais à la faculté de médecine et odontostomatologie (FMPOS). Saches que ce travail est le fruit de ta confiance, tes encouragements et la grande affection que tu as toujours eue envers tes enfants.

Que Dieu te Bénisse et te garde encore longtemps parmi nous.

Ce travail est le tien Papa

**A ma mère Kadidiatou Guindo dite DAYA,**

Maman, ton sourire et tes conseils m'ont accompagnées et encouragées tout au long de mes études.

Dans les moments les plus difficiles, il me suffisait de fermer les yeux pour sentir à côtés cette femme patiente, si énergique au sourire et au cœur d'ange.

Le profond amour que tu prodigues à tes enfants, tes privations font de ce travail avant tout le tien. Infatigable, tu t'es toujours sacrifiée pour leur réussite.

La jeune pousse que tu as aimée, protégée des intempéries de la nature est devenue maintenant un arbre bien solide.

Que Dieu te bénisse et te garde encore longtemps parmi nous afin que tu puisses te reposer et profiter de son ombrage.

Le sens des mots ne saura jamais traduire combien je t'aime.

Maman trouve en ce travail une introduction du résultat des efforts et de tous les sacrifices que tu as pu consentir pour moi.

Ce travail est le tien.

**Chers parents** : Sachez que je suis fier d'être votre enfant, je suis fier de vous et j'espère que vous serez un jour fier de votre fils.

**A mes frères et sœurs : Boubacar, Domo.chaka, Brehima, Fatoumata et Laya** : L'affection et la confiance qu'on a toujours eue les uns envers les autres m'a donné foi pour achever ce travail qui est avant tout le votre. Puisse ces sentiments nous maintenir aussi unis que les chevaux d'un attelage afin que nous menions à bien le chariot de nos vies. Bon courage et surtout ne baisser jamais les bras devant les difficultés de la vie. Avec ma tendresse infinie.

- **A tous les malades de notre chère planète qui sont victimes de paludisme quelqu'en soit l'(es) étiologies.**

# REMERCIEMENTS

## REMERCIEMENTS

**A Dieu, le tout puissant, le clément, le très Miséricordieux, je te rends grâce de m'avoir donné la vie le courage et les potentialités nécessaires d'accomplir cette œuvre selon ta volonté. Continuer à m'assister.**

### **Allah**

Donne à mes yeux la lumière pour voir ceux qui ont besoin de soins ;  
Donne à mon cœur la compassion et la compréhension ;  
Donne à mes mains l'habileté et la tendresse ;  
Donne à mes oreilles la patience d'écouter ;  
Donne à mes lèvres les mots qui réconfortent ;  
Donne à mon esprit le désir de partager ;  
Donne-moi Allah, le courage d'accomplir ce travail ardu et fait que j'apporte un peu de joie dans la vie de ceux qui souffrent.

Amen!

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

Je voudrais remercier les honorables membres du jury : **Pr Sékou F. Traoré, Dr Mahamadou Diakité, Dr Mamadou B. Coulibaly, Dr Abdoulaye M. Touré.**

Pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Mes remerciements vont à tout le personnel du Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie (MRTC/FMPOS) et notamment:

**A Alpha Seydou Yaro** : Merci du plus profond de mon cœur pour l'aide inestimable que vous m'avez apportée, dans tous les domaines et sans restriction. Votre apport intellectuel et matériel, ainsi que vos conseils de grands frères ne m'ont jamais fait défaut aux moments les plus cruciaux. Votre simplicité, votre esprit d'équipe et votre

disponibilité constante à aider ceux qui en ont besoin, font de vous un scientifique et un pédagogue admirable, Puisse Dieu te donne une longue vie remplie de bonheur. Soyer rassuré de ma profonde reconnaissance.

-Je voudrais remercier **Dr Mamadou B. Coulibaly**, d'avoir dirigé ce travail. Merci pour la confiance et la grande liberté d'action que vous m'avez accordées. Ton encadrement responsabilisant m'a permis d'acquérir indépendance et confiance en moi. Ta façon originale d'aborder les questions scientifiques m'a beaucoup appris. Merci pour m'avoir permis de m'initier aux différents techniques de la biologie moléculaire dans les magnifiques locaux du MRTC. Je crois que d'avoir décidé de faire ma thèse sous votre responsabilité a été l'un des choix les plus judicieux de mes études. Acceptez ici mes reconnaissances intarissables.

- **Pr. Yéya Tiémoko Touré** : Premier Directeur du MRTC, Coordinateur de la recherche sur le paludisme et Manager du Comité d'Entomologie Moléculaire de l'OMS à Genève, scientifique infatigable et méticuleux. Ce travail est le fruit de l'effort conjugué de toute une équipe de recherche à laquelle vous avez su inculquer avant votre départ, l'esprit de la compétitivité dans l'honnêteté scientifique. Puisse ce travail exprimer toute ma profonde reconnaissance et mon admiration.

- A mes autres maîtres et aînés du MRTC : Dr Richard K. Sakai, Adama Dao, Dr Guimogo Dolo, Dr Djibril Sangaré, Dr Nafomon Sogoba, Dr Mamadou Diakité, Souleymane Karambé, Moussa Diallo, Dr Abdoulaye Adamou, Dr Yaya Coulibaly, Ibrahim Baber, Mamadou Konaté, Adama Sacko, Abdramane Fofana, Boubacar Coulibaly, Ibrahim Moussa Sissoko, Dr Brehima Diallo, Dr Benoit Dembélé, Abdallah Diallo, Lamine Soumaoro, Michel Coulibaly, Oumou Niaré, Cheick A. Coulibaly, Dr Brehima Diakité, Dr Yaya Kassogué, Dr Sibiri Samaké, Dr Boubacar Guindo, Dr Saïdou Balam, Dr Housseïny Dolo, Dr Dramane Sanogo, Moussa Keita, Dr Sekou Koumaré, Dr Mandjou Sacko, Dr Mariam Maïga.

- A mes collègues de thèse du MRTC : Mohamed Moumine Traoré, Chaka Coulibaly, Chaka Konaté, Amadou Sékou Traoré, Bilkissou Yagouré, Bréhima Traoré, N'Bouyé Diallo. Bonne carrière professionnelle à tous.

**-A M. Abdourhamane Moussa Dicko**

Cher cousin Je souris encore rien qu'à penser à tous les moments formidables que vous m'avez fait passer. Votre sympathie et votre sagesse de la vie furent une expérience pour moi.

- A tous les informaticiens, chauffeurs et manœuvres du MRTC.

□ **A mon grand frère: Boubacar Guindo**

Qui est toujours à mes cotés pour les conseils et les soutiens.

Je vous dis merci pour l'affection et recevez ici ma profonde reconnaissance.

□ **A ma belle sœur chérie : Korotoumou Yanogo**

Vous êtes admirable à plus d'un titre.

□ **A tous mes frères et sœurs : Domo, Fatoumata (dite Tenin), Chaka, Laya (dite La vieille) et Brehima (dit Ladji)**

Vous m'avez tous soutenus. Que nos liens se resserrent d'avantage, restons unis et solidaires pour honorer Papa et Maman. Que Dieu veille sur notre famille. Amen.

□ **A mes cousins et cousines :**

L'unité et la cohésion sont les gages du succès dans les entreprises.

□ **A mes oncles : Sékou Guindo, Ali Guindo, Alfousseny Guindo, Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.**

○ **A mes pères : Amadou Babadji, Moussa Babadji, Ousmane Babadji**

○ **A la mémoire de mon oncle: Feu Moctar Guindo**

O ! mort cruelle que de nous avoir arraché si prématurément un être bien, bon, plein d'enthousiasme, de savoir être et de savoir faire.

Dors en paix cher Tonton. Amen !

□ **A mes tantes :**

Soyez rassurées de ma respectueuse reconnaissance.

- **A mes amis(es), collègues et camarades :** Moussa Berthe et son épouse Awawattara, Mahamadou N’Gombele Doumbia et son épouse Assetou Samaké, Brehima Toure et son épouse Assetou Toure, Sékou Drago, Cheick Diarra, Abdramane Konate, Ousmane N’diaye, Brehima Mariko, Mamadou Bassirou Traore.

Les mots me manquent pour vous dire combien merci, car c’est à travers vous que j’ai connu le sens du mot amitié.

Nous avons toujours été ensemble pendant les moments de joie, de tristesse et surtout pendant des moments durs notamment la préparation des examens et la proclamation des résultats.

J’ai trouvé en vous des hommes honnêtes animés de bon sens et courageux. Qu’Allah le tout puissant sauvegarde notre amitié.

- **A Kadiatou Traore**

Tu m’as dit un jour une belle chose qui m’a beaucoup émue : < L’amitié est une richesse incomparable qui humanise le monde et éloigne des frontières de la différence >.

Plus qu’un ami, tu as su être toujours présent dans les moments les plus difficiles de ma vie estudiantine. Le profond attachement qui nous unis, tes conseils, tes encouragements, ta présence et ton amour font de ce travail le tien.

Sache que les mots expriment souvent bien peu de ce qu’il y’a au fond de nous.

Tendresse infinie

- **A la mémoire de ma grande mère Fatoumata dite yabere.** Tu as toujours souhaité de tout cœur que ton petit fils qui je suis devienne un jour Médecin. Tu t’es toujours battue pour que ce souhait puisse voir le jour.

J’espère avoir été à la hauteur de tes espérances.

J’aurais aimé que tu sois avec moi en ce jour pour partager ce moment de joie mais hélas le tout puissant en a décidé autrement. Dors en paix, je ne t’oublierai jamais.

- **A la mémoire De mes grands parents :**

Boubacar Babadji et Domo Guindo

Que l’Eternel vous reçoit dans sa grâce et sa miséricorde.

- **A la famille Guindo à Medina coura.** Toute ma reconnaissance.

- **A mes enseignants de l’école fondamentale**



- **A mes Professeurs du lycée Kankou Moussa de Daoudabougou**
- **A mes Professeurs de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie**
- **A tout le personnel du centre de santé communautaire de Niamakoro et du cabinet Maman à Niamakoro**

A tous les étudiants de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) du Mali.

Aux guides de Donéguébougou : Malgré vos multiples occupations, vous avez été toujours là en cas de besoins

Merci pour votre disponibilité constante

-A toute la population de Donéguébougou.

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



**A notre Maître et Président du Jury**

**Professeur Sékou Fantamady Traoré,**

PhD en entomologie médicale,

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

Directeur de la section entomologie du MRTC

Co-directeur du MRTC

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider cette thèse.

Nous avons bénéficié à la FMPOS, de votre enseignement de qualité.

L'honnêteté intellectuelle qui vous caractérise, votre courtoisie, votre humilité, votre sagesse et l'étendue de vos connaissances font de vous un homme admirable.

Trouvez dans ce travail l'expression de notre profonde gratitude.

**A notre Maître et juge de Thèse****Docteur Mahamadou Diakité**

Docteur en Pharmacie, PhD en Immuno -Génomique humaine, responsable de l'unité Immuno-Génomique du MRTC.

Vous avez consenti beaucoup de sacrifices pour nous assurer un encadrement de qualité pendant notre séjour à vos cotés.

Nous avons été séduits par la clarté de votre enseignement durant notre formation.

Votre simplicité, votre abord facile font que vous êtes admiré de tous.

Trouvez ici cher Maître le témoignage de notre profond respect. Puisse le Seigneur vous combler de grâce.

**A notre Maître et Codirecteur de Thèse****Docteur Mamadou B. COULIBALY**

Docteur en Pharmacie, PhD en sciences biologiques, responsable de l'unité génomique et protéomique du MRTC.

La rigueur dans le travail, l'amour du travail bien fait et le sens élevé du devoir ont forcé notre admiration.

Ce travail est le fruit de votre volonté de parfaire, de votre disponibilité et surtout de votre savoir faire. Votre caractère social fait de vous un homme exceptionnel. Les mots nous manquent pour vous remercier de tout ce que vous avez fait pour notre formation afin de faire de nous de bons médecins.

Acceptez ici notre profonde gratitude.

## **A notre Maître et Directeur de Thèse**

### **Docteur Abdoulaye M. Touré**

Docteur en Médecine, PhD en parasitologie entomologie médicale

Coordinateur régional de la lutte anti vectorielle pour le centre O.M.D (Objectif du Millénaire pour le Développement) pour l'Afrique de l'Ouest et du centre.

Cher Maître

Nous nous réjouissons de la confiance que vous nous faites en nous acceptant comme élève.

Vous nous avez inspiré le sujet de cette thèse et apporté toutes les corrections nécessaires à ce travail.

Vous êtes restés toujours disponible et c'est le moment de vous rendre cet hommage mérité.

Durant notre stage effectué auprès de vous, nous avons pu apprécier et admirer le maître que vous êtes, et nous ne cesserons jamais d'évoquer votre compétence, vos qualités scientifique et humaine.

Cher maître, puisse le Seigneur vous donner longue vie, pleine de santé pour notre formation, mais aussi pour la santé de la population en générale.

**Amen !**



# LISTE DES ABREVIATIONS

## ACRONYMES

**OMS** = Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organization =WHO)

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

**FMPOS**= Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie

**MRTC**= Malaria Research and Training Center ( Centre de formation et de la recherche sur le paludisme )

**CSP** =Circum Sporozoite Protein

**PCR**= Réaction de polymérisation en chaîne

**ELISA**= Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay

**ADN** = Acide désoxyribonucléique

**AR**= *arabiensis*

**Bp** = paire de base

**Bti** = *Bacillus thurigiensis israelensis*

**dNTP**=Desoxy nucléotide triphosphate

**F1**=première génération de moustique

**GIS**= Geographical information system

**GA**=*gambiae*

**Km** = kilomètre

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

**Moy**= moyenne

**MII** = Moustiquaire imprégnée d'insecticide

**MgCl<sub>2</sub>** = chlorure de magnésium

**µl**=microlitre

**µm** = micromètre

**mM** = millimolaire

**mn** = minute

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

**Taq** =*Thermus aquaticus*

**UN** = Universel

**UV**= Ultraviolet

♀ = femelle



♂ = mâle

*An.* = *Anopheles*

mm = millimètre

*P.f* = *Plasmodium falciparum*

*s.l.* = *Sensu Lato*

*s.s.* = *Sensu Stricto*

**M** = forme moléculaire Mopti

**H** = heure

**J** = jour

**Fig.** = figure

**S** = forme moléculaire Savane

**T** = temps

**L** = longueur ; **I** : largeur ;

**N** = Nombre

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Distribution géographique : Carte de répartition des espèces du complexe <i>An gambiae</i> en Afrique d'après Danis et Mouchet (1991), actualisé (Simard., 1999).....	<b>13</b>
<b>Figure 2</b> : Photos montrant la morphologie des œufs (a), des larves (b), des nymphes(c) et des adultes (d et e) d'anophèles.....	<b>20</b>
<b>Figure 3</b> : Cycle biologique des moustiques.....	<b>22</b>
<b>Figure 4</b> : Cycle trophogonique d'une femelle de moustique.....	<b>23</b>
<b>Figure 5</b> : Cycle Sporogonique du parasite au sein du moustique.....	<b>24</b>
<b>Figure 6</b> : Photos montrant la morphologie des différentes espèces plasmodiales humaines ; <b>A</b> ( <i>Plasmodium falciparum</i> ), <b>B</b> ( <i>Plasmodium malariae</i> ), <b>C</b> ( <i>Plasmodium ovale</i> ), <b>D</b> ( <i>Plasmodium vivax</i> ) .....	<b>27</b>
<b>Figure7</b> : Illustration schématique de la transmission du paludisme par le vecteur (Anophèle).....	<b>31</b>
<b>Figure 8</b> : Carte du Mali indiquant les sites de collecte des anophèles.....	<b>41</b>
<b>Figure 9</b> : Diagramme du protocole d'étude.....	<b>49</b>
Figure10 : Photo d'une aile d' <i>Anopheles gambiae s.l</i> montrant la distance mesuré pour la détermination de la taille de l'anophèle.....	<b>52</b>
<b>Figure11</b> : Distribution des fréquences d' <i>An. arabiensis</i> et des formes moléculaires M et S d' <i>An. gambiae s.s</i> dans la population d'étude .....	<b>54</b>
<b>Figure 12</b> : Proportion de femelles infectées et de femelles non infectées d' <i>An. arabiensis</i> et des formes moléculaires M, S d' <i>An. gambiae s.s.</i> au sein de l'échantillon global.....	<b>56</b>
<b>Figure 13</b> : Corrélation entre la taille et le nombre d'œufs pondus par les femelles sauvages de la population d'étude.....	<b>63</b>

**Figure 14:** Corrélation entre le nombre d'œufs pondus et la taille des femelle sauvages *d'An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S *d'An. gambiae s.s* infectées.....64

**Figure 15 :** Corrélation entre le nombre d'œufs pondus et la taille des femelles *d'An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S *d'An. gambiae s.s* non infectées par *P. falciparum*.....65

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau I :** Relevés climatologiques de la station Bamako-Senou 2005.....44

**Tableau II:** Relevés climatologiques de la station Bamako-Senou 2006.....45

**Tableau III :**Fréquence des vecteurs en fonction du statut d'infection par *P.falciparum*.....55

**Tableau IV :** La proportion de femelles infectées et de femelles non infecté pour *An. arabiensis* et des formes moléculaires M, S *d'An. gambiae* au sein de l'échantillon global.....49

**Tableau V:** Comparaison du nombre moyen d'œufs pondus par les femelles sauvages *d'An. arabiensis* et des formes moléculaires M, S *d'An. gambiae s.s* infectées et non infectées.....57

**Tableau VI :** Comparaison du taux d'éclosion d'œufs pondus par les femelles sauvages (M, S, *An. arabiensis*) infectées et non infectées.....58

**Tableau VII :** Comparaison de la durée moyenne du développement des larves issues des femelles *d'An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S infectées et non infectées.....59

**Tableau VIII** : Répartition par sexe des imagos F1 issus des larves des femelles sauvages d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s* infectées et non infectées.....**60**

**Tableau IX** : Comparaison de la taille moyenne des femelles sauvages d'*An.arabiensis* et des formes moléculaires M et S infectées et non Infectées.....**61**

**Tableau X** : Comparaison de la taille moyenne des imagos F1 issus des larves des femelles sauvages d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S infectées et non infectées.....**62**

# SOMMAIRE

**SOMMAIRE**

	<b>PAGES</b>
<b>1-INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>2.OBJECTIFS</b> .....	<b>4</b>
2.1. Objectif général.....	4
2.2. Objectifs spécifiques.....	4
<b>3. GENERALITES</b> .....	<b>5</b>
3.1. Rappel sur le paludisme.....	5
3.2. Le vecteur.....	10
3.3. Bio-Ecologie des Anophèles.....	14
3.4. Cycles.....	21
3.5. Le parasite.....	25
3.6. Lutte contre le paludisme.....	32
<b>4. MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>39</b>
4.1. Lieu d'étude.....	39
4.2. Justification du choix de Donéguébougou.....	47
4.3. Type d'étude.....	47
4.4. Période d'étude et échantillonnage.....	47
4.5. Collecte des moustiques.....	48
4.6. Traitement au laboratoire.....	48
4.7. Identification des groupes de comparaison.....	50

<b>4.8. Elevage.....</b>	<b>50</b>
<b>4.9. Détermination de la taille des moustiques.....</b>	<b>51</b>
<b>4.10. Technique d'identification et analyses biologiques.....</b>	<b>51</b>
<b>5. RESULTATS .....</b>	<b>54</b>
<b>6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION .....</b>	<b>66</b>
<b>7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....</b>	<b>72</b>
<b>8. BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>74</b>
<b>9. ANNEXES</b>	

# INTRODUCTION



## 1. INTRODUCTION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Quatre espèces de *Plasmodium* sont décrites chez l'homme : *P. falciparum* (Welch 1897), la plus dangereuse, *P. malariae* (Laveran, 1881), *P. ovale* (Stephens, 1922) et *P. vivax* (Grassi et Feletti, 1890).

Une cinquième espèce, *Plasmodium knowlesi*, a été décrite comme infectant l'homme en Malaisie (Singh, Kim Sung et coll. 2004).

Le paludisme est transmis à l'homme par la piqûre infectante de l'anophèle femelle. Il constitue un problème majeur de santé publique frappant surtout les pays intertropicaux, qui pour la plupart sont pauvres. Plus de 2,4 Milliards de personnes sont exposées au risque du paludisme dans le monde avec 247 millions de cas par an (OMS, 2008). Le paludisme tue 1, 5 à 2,7 millions de personnes chaque année dans le monde dont une majorité d'enfants de moins de cinq ans. L'Afrique est le continent le plus touché, avec environ 90 % des cas de paludisme et plus de 3000 décès par jour (OMS 2003).

Au Mali, le paludisme est la première cause de morbidité et de mortalité chez les enfants de moins 5 ans avec des taux respectifs de 27,16 % et 26,13 % dans la population générale (PNLP, 2004). Les principaux vecteurs rencontrés sont les membres du complexe *Anopheles gambiae* abondant surtout en saison pluvieuse et *Anopheles funestus* fréquent en saison sèche fraîche (Touré, et al., 1985). Ce modèle de répartition temporelle des vecteurs favorise la transmission continue du paludisme pendant toute l'année.

Le complexe *Anopheles gambiae* regroupe aujourd'hui sept espèces : *Anopheles arabiensis* et *Anopheles gambiae s.s.* deux des vecteurs majeurs du paludisme en Afrique, *Anopheles melas*, *Anopheles merus*, *Anopheles bwambae*, *Anopheles quadriannulatus A*, *Anopheles quadriannulatus B* récemment décrite en Ethiopie (Hunt et al., 1998). A son tour, au Mali *Anopheles gambiae s.s.* est subdivisé en trois formes chromosomiques dénommées : Mopti, Bamako, Savane (Touré et al., 1982). Grace aux travaux de recherche des auteurs comme Favia, (94, 97, 2001) ; Gentile, (2001) et (Fanello et al., 2002), ces formes chromosomiques ont été réparties en deux formes moléculaires : M (Mopti) et S (Bamako/Savane). Il faut noter que l'équivalence entre formes chromosomiques et formes moléculaires n'est vérifiée qu'en Afrique de l'ouest (Della Torre, 2001).

Aujourd'hui, même s'il y a des ébauches vaccinales prometteuses contre le paludisme, il n'existe pas encore de vaccin efficace. La lutte contre cette maladie se complique par la résistance du parasite à certains médicaments courants. La lutte anti-vectorielle est une composante importante de la stratégie globale de lutte contre le paludisme préconisée par l'OMS (OMS, 92). Cette composante fait face au défi de la résistance des vecteurs aux insecticides courants. Un autre défi dans la lutte contre le paludisme constitue une connaissance approfondie de la bio-écologie des vecteurs aussi bien que leur interaction avec le parasite. Comprendre le système parasite-vecteur est d'une importance capitale car pouvant aboutir à de nouvelles stratégies pour contrôler la transmission du parasite et ainsi mieux lutter contre le paludisme en améliorant les méthodes existantes ou en introduisant des méthodes innovatrices.

Le moustique s'infecte en prenant du sang infecté. Des études ont démontré que cette infection n'est pas sans effet sur le moustique lui-même. Même si les anophèles pondent en général 800 à 1000 œufs au cours de la durée de leur vie (Goma, 1966), l'infection entraînerait une réduction de fécondité chez la femelle par la résorption de certaines follicules au cours de l'ovogénèse (Cléments et

Broock, 1984). Cette résorption folliculaire serait justifiée par l'envahissement de l'abdomen du moustique par les oocystes provoquant ainsi la destruction des cellules folliculaires (Lyimo, et Koella 1991, 1996 ; Hopwood. et al. 2001). Pendant la maturation et la réplication dans l'estomac du moustique et l'invasion des glandes salivaires, le parasite peut altérer la longévité, le comportement de prise de sang, l'activité de vol et même la reproduction du moustique (Kittayapong et al, 1992, Javadian et Mac Donald., 1974, Schiefer et al., 1977 Mack et al., 1979, Maier, 1987 ; Hurd, 1993, Hogg. et Hurd.1996, Ahmed et al, 1999). Il faut cependant noter que certaines études n'ont décelé aucun effet significatif de l'infection sur le vecteur (Boyd 1949 ; Ragab, 1958). Dans le même ordre d'idées des études ont été menées sur la corrélation entre l'infection et la taille ou le poids des moustiques (Hovanitz.1947, Ichimori.1989, Kitthawee S.et al.1990). Jusque là, les études sur l'effet de l'infection à *Plasmodium* sur *Anophèles gambiae* n'ont porté que sur l'espèce ; alors que vu la subdivision de *An. gambiae* en formes moléculaires M et S (qui seraient en instance de spéciation), si M et S s'avéraient des espèces différentes, elles pourraient avoir différentes réponses à l'infection par le *Plasmodium*. La présente étude se propose donc de déterminer l'effet de l'infection à *P. falciparum* sur le taux d'éclosion des œufs et le développement larvaire ainsi que la taille des générations F1 chez *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* au Mali. L'importance d'une telle étude se retrouve à plusieurs niveaux:

- au niveau de la recherche fondamentale, en mesurant directement l'impact d'un phénomène bio-physiologique sur la bio-écologie de la transmission du paludisme ;
- au niveau de la connaissance générale (science) sur les spécificités biologiques des formes moléculaires.

Pour mener cette étude, les objectifs suivants ont été fixés :

# OBJECTIFS

## 2- OBJECTIFS

### 2.1. Objectif général :

- ❖ Etudier l'impact de l'infection à *P. falciparum* sur le taux d'éclosion des œufs et le développement larvaire chez *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* au Mali dans les conditions naturelles.

### 2.2. Objectifs spécifiques

- ❖ Déterminer le taux d'éclosion des œufs chez les femelles d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S, d'*Anopheles gambiae* infectées et non infectées ;
- ❖ Comparer le développement des larves issues des femelles d'*An. arabiensis* et celle des formes moléculaires M et S d'*Anopheles gambiae* infectées et non infectées ;
- ❖ Dénombrer et mesurer la taille des adultes F1 mâles et femelles issus des femelles sauvages d'*An. arabiensis* et celle des formes moléculaires M et S d'*Anopheles gambiae* infectées et non infectées ;
- ❖ Déterminer la corrélation entre la taille et le nombre d'œufs pondus par les femelles d'anophèles sauvages.

# GENERALITES

### 3- GENERALITES

#### 3.1. Rappel sur le paludisme

##### 3.1.2. Historique

On pensait à l'origine que cette maladie provenait des zones marécageuses, d'où le nom de paludisme dérivé du mot ancien « palud = marais ». C'est en 1880 qu'Alphonse Laveran découvre l'hématozoaire du paludisme à partir de l'observation d'une goutte de sang à l'état frais entre lame et lamelle provenant d'un patient infecté par *Plasmodium falciparum*, ce qui lui a valu le prix Nobel de médecine en 1907. En 1897, la transmission de cette affection par la piqûre des moustiques du genre *Anopheles* est soupçonnée par Ross et confirmée par Grassi en 1898. Quatre espèces de parasite sont retrouvées chez l'homme, il s'agit de:

- *P. falciparum* à l'origine de la fièvre tierce maligne (espèce prédominante et responsable de 90% de la mortalité due au paludisme). Il est répandu sur l'ensemble de la zone intertropicale ;

- *P. vivax* à l'origine de la fièvre tierce bénigne avec des rechutes à long terme et possède également une large répartition mais il est presque absent en Afrique intertropicale ;

- *P. ovale* à l'origine de la fièvre tierce bénigne avec des rechutes à long terme, essentiellement retrouvé en Afrique intertropicale ;

- *P. malariae* à l'origine des fièvres quartes et présente une répartition plus clairsemée grossièrement superposable à celle de *P. falciparum*.

##### 3.1.2.1. La maladie

Le paludisme est une affection due à la présence dans le sang d'un parasite unicellulaire (un protozoaire) du genre *Plasmodium* à cycle diphasique: cycle à deux hôtes indispensables, l'homme et l'anophèle. Sur plus d'une centaine d'espèces plasmodiales parasitant les mammifères, les rongeurs, les oiseaux ou

même les batraciens, seules quatre sont spécifiques à l'homme et peuvent déclencher la maladie sous des formes plus ou moins graves.

### ❖ Clinique

Elle revêt plusieurs formes.

#### • Accès de primo-invasion

Classiquement l'incubation est de 7 à 21 jours, elle est cliniquement muette.

Le tableau est celui d'un embarras digestif fébrile.

Il se manifeste durant les premiers cycles de développement endo-érythrocytaire du parasite.

#### • Accès palustre simple

Il est parfois précédé de prodromes : céphalées, nausées, herpes labial.

Typiquement il est caractérisé par la périodicité des symptômes. Trois phases se succèdent :

- les frissons marquées par une forte température ( $>38^{\circ}5$ ),
- la chaleur, elle peut durer 3 à 4 h, accompagnée le plus souvent de céphalées, de douleurs abdominales,
- d'importantes sueurs avec une chute thermique.

Classiquement la fièvre tierce (survenant toutes les 48 h) est causée par *P.*

*falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* ; la fièvre quarte (survenant toutes les 72 h) est provoquée par le *P. malariae*.

#### • Accès palustre grave et compliqué

Seul *P. falciparum* est responsable de cette forme. Les sujets non immuns et les enfants de moins de 5 ans constituent la couche de prédilection.

Il est dominé par les signes neurologiques:

les troubles de conscience (de l'obnubilation au coma), les convulsions (avec une température dépassant souvent  $40^{\circ}$ ), les troubles du tonus, l'abolition de réflexes ostéo-tendineux.



Il peut s'accompagner de manifestations viscérales contribuant à l'aggravation du pronostic.

- **Fièvre bilieuse hémoglobinurique**

Elle survient le plus souvent chez des sujets en zone d'endémie avec des antécédents d'accès palustres et observant une prophylaxie et/ ou des traitements intermittents par des amino-alcools. Le début est brutal marqué par une hémolyse intra-vasculaire, une anémie, un ictère, une chute tensionnelle. Il y a la présence de douleur intense en barre au niveau de la ceinture pelvienne, une oligurie avec des urines rouge-porto. La parasitémie peut être nulle ou modérée.

- 

- **Paludisme viscéral évolutif**

Il est rencontré chez des sujets en zone d'endémie après une longue exposition aux infestations palustres.

Les signes essentiels sont l'asthénie, l'anorexie, la splénomégalie et une modification des paramètres biologiques dont l'anémie.

Parfois chez l'enfant, il y a un retard staturo-pondéral.

Un traitement précoce et adapté permet une guérison clinique et biologique

### **3.1.3: Rappel épidémiologique**

L'épidémiologie du paludisme a été définie comme l'étude de la distribution et de la fréquence du paludisme et les facteurs déterminants dans une population donnée.

#### **3.1.3.1 : Les facteurs épidémiologiques**

La transmission naturelle de la maladie et sa manifestation dépendent de la relation étroite existante entre les différents facteurs épidémiologiques. Ces facteurs dépendent :

Chez l'homme : l'âge (les enfants et les nourrissons sont plus susceptibles au paludisme), l'immunité (pour la population habitant dans les zones endémiques), la grossesse (augmentation de la sensibilité aux infections et au paludisme), la présence de gamétocytes dans le sang du patient, les facteurs génétiques comme les hémoglobines anormales HbS et thalassémie (protection contre le paludisme), l'absence de l'antigène érythrocytaire du groupe Duffy ( protégeant contre l'infection à *P.vivax* ) et l'état nutritionnel ;

- **les parasites** : l'espèce parasitaire (la plus sévère étant *P. falciparum*) et les souches de cette espèce qui sont plus ou moins sensibles aux antipaludiques ;

- **les vecteurs** : la compétence et la capacité vectorielles des *anophèles* en rapport avec leur bio-écologie ;

- **l'environnement** : la température ambiante, l'humidité relative, l'intensité et la fréquence des pluies, le paysage épidémiologique (forêts, savanes, déserts etc.) ainsi que l'environnement créé par l'homme lui-même notamment au cours de ses efforts d'urbanisation non contrôlée (zones urbaines vs zones peri-urbaines).

**les facteurs socio-économiques** : projets de développement agricole (surtout la riziculture), construction de barrages, habitations ne protégeant pas contre les moustiques, travaux nocturnes, positions des habitations par rapport aux gîtes larvaires, les migrations, les possibilités financières ainsi que les pratiques culturelles et l'alphabétisation.

### 3.1.3.2. Les **Indices malariologiques**

La compréhension des modalités de la transmission du paludisme dans une zone donnée repose sur une évaluation correcte d'un certain nombre d'indices malariologiques.

- **Les indices malariologiques humains**

**-Indice splénique :** c'est le pourcentage de personnes ayant une splénomégalie dans une population donnée en un lieu et une période bien déterminée. Elle est obtenue par la palpation de la rate, qui suit la classification de Hackett chez les enfants de 2 à 9 ans.

**-Indice plasmodique :** c'est la proportion de personnes portant le parasite en un lieu et une période de temps bien donnés.

**-Indice gametocytaire :** c'est la proportion de personnes portant des gamétocytes dans une population donnée en un lieu et une période de temps déterminés. Cet indice est très important dans la propagation de la maladie.

**-Indice sero-immunologique :** c'est l'état immunitaire acquis par une population donnée en un lieu donné suite à l'exposition à la maladie.

**- Les indices malariologiques chez le moustique :**

**Indice oocystique :** C'est le pourcentage de moustiques porteurs d'oocystes de Plasmodium au niveau de l'estomac dans une population anophélienne d'une espèce donnée.

**-Indice sporozoïtique :** C'est le pourcentage de moustiques porteurs de sporozoïtes de Plasmodium au niveau des glandes salivaires dans une population anophélienne d'une espèce donnée.

### 3.1.3.3. Distribution du paludisme au Mali

Au Mali, le paludisme constitue la première cause de morbidité (27.16%) et de mortalité (21, 13% ; PNLP, 2004). Il représente 48% des motifs de consultation dans les centres de santé. Au Mali, chaque enfant fait au moins un accès palustre par saison de transmission et l'incidence des formes graves et compliquées est de 40 à 52% par an.

Cinq faciès épidémiologiques de transmission du paludisme ont été décrits par Doumbo et al., 1983.

- La zone de transmission saisonnière longue de quatre à six mois au sud. Elle correspond à la région soudano-guinéenne, sud des régions de Kayes, Koulikoro, Sikasso et Ségou. Le paludisme y est holo-endémique avec un indice plasmodique supérieur à 75% de juin à novembre ;
- La zone de transmission saisonnière courte à quatre mois dans les régions de la savane nord soudanienne et sahel, nord des régions de Kayes, Koulikoro, Ségou, et Mopti; Le paludisme y est hyper endémique avec un indice plasmodique variant entre 50 et 75% ;
- La zone subsaharienne au nord, où la transmission est sporadique voire épidémique correspondant au Sahara, régions de Gao, Tombouctou et Kidal. , l'indice plasmodique est inférieur à 5% ;
- La zone du delta intérieur du fleuve Niger et les zones de retenue d'eau et de riziculture (barrage) où la transmission est bi modale voire pluri- modale. En début de pluie, la période de crue et de mise en eau des casiers rizicoles ; le paludisme est de type méso endémique avec un indice plasmodique inférieur à 40% ;
- Le milieu urbain en particulier celui de Bamako est impropre à l'impaludation (pollution des gîtes, médicalisation etc.). Le paludisme y est de type hypo endémique avec un indice plasmodique inférieur à 10%. Cette hypo endémicité du milieu urbain expose les enfants des citadins aux formes graves et compliquées du

paludisme, souvent à un âge avancé par rapport aux enfants des zones rurales. Ce milieu peut être divisé en deux : le centre ville, le milieu périurbain (constitué par les villages situés en périphérie de la ville de Bamako).

### 3.2. Diagnostique :

- Chez l'homme, la détection du parasite du paludisme est relativement simple et très rapide à mettre en œuvre. Le diagnostic s'effectue par la réalisation d'un frottis sanguin après prélèvement d'une goutte de sang au bout du doigt. La goutte de sang est étalée sur une lame, et une (1) heure après coloration, le parasite est révélé au microscope dans les globules rouges.

Il nécessite un seuil minimal de globules rouges infectés. Certaines techniques de diagnostic indirect ont été mises au point : la méthode dite des bandelettes qui consiste à la recherche d'anticorps spécifiques dans le sang, la détection d'acides nucléiques spécifiques par la méthode de biologie moléculaire (PCR).

A cause du coût élevé de ces nouvelles techniques de diagnostic, la méthode de référence reste encore l'examen microscopique d'un frottis mince ou d'une goutte épaisse colorée avec le Giemsa.

- **chez le vecteur :**

La mise en évidence de l'infection des moustiques par le *Plasmodium* se fait principalement de deux manières :

- **de façon directe** (microscopie) par la dissection pour la recherche des oocystes au niveau de l'estomac ou des sporozoïtes au niveau des glandes salivaires,
- **de façon indirecte** en utilisant des méthodes enzymatiques comme 'l'ELISA' (*Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay*) basée sur les réactions de type antigène-anticorps ou par la méthode de biologie moléculaire basée sur l'amplification et la mise en évidence de l'acide ribonucléique (ARN) du parasite chez le moustique.

### 3.3. Le vecteur

- **Rappel sur les anophèles**

Le vecteur du paludisme est un moustique du genre *Anopheles*. Environ une soixantaine d'espèces différentes véhiculent les parasites (*Plasmodium*) responsables de la maladie. Parmi les anophèles fréquemment rencontrés en Afrique il ya :

- *An. funestus*: répandu dans toute l'Afrique subsaharienne. Elle est abondante dans les savanes ouvertes.
- *An. gambiae*: présent dans la quasi totalité de l'Afrique subsaharienne non méridionale.
- *An. nili*: très largement répandu dans toute l'Afrique et est localisé aux environs des cours d'eau permanents ou semi-permanents dans lesquels se développent ses larves.
- *An. moucheti* : est limité au bloc forestier d'Afrique Centrale et aux galeries forestières qui le prolongent au nord et surtout au sud. Il est connu au sud Cameroun, au Gabon, au sud de la République Centrafricaine et au Congo.
- An. pharoensis* : c'est un anophèle relativement grand, qui est très abondant dans le delta du Nil. Il est présent en Afrique tropicale. Il est vecteur en Egypte.
- *An. sergentii* : il est vecteur dans les zones irriguées de Libye et d'Egypte.

- \* **Systématique**

Les anophèles appartiennent au règne animal, à l'embranchement des Arthropodes ; au Sous-embranchement des Mandibulates ; à la classe des Insectes ; à la sous-classe des Ptérygotes (Holométaboles) ; à l'ordre des Diptères ; au sous-ordre des Nématocères ; à la famille des Culicidae ; à la Sous-famille des Anophelinae, et au genre *Anophèles*.

Au Mali, *An. funestus* (Fig. 2: **d**) et *Anophèles gambiae* s.l. (Fig.2: **e**) sont les principaux vecteurs du paludisme (Touré et al., 1979) .

*Espèces du complexe Anophèles gambiae:*

*Anopheles gambiae s.s.* (Giles, 1902),

*Anopheles arabiensis* (Patton, 1905),

*Anopheles quadriannulatus A* (Théobald, 1911),

*Anopheles quadriannulatus B* (Hunt et al., 1998),

*Anopheles bwambiae* (White en 1985),

*Anopheles melas* (Théobald, 1903),

*Anophèles merus* (Donitz, 1902).

Les deux premières espèces colonisent préférentiellement les eaux douces des zones humides (*An. gambiae s.s.*) Ou sèches (*An. Arabiensis*). Ces deux espèces vivent en sympatrie dans les zones de savane. *An. quadriannulatus* se rencontre dans les régions orientales africaines. *An. bwambiae* se développe dans les eaux minéralisées et relativement chaudes (33-36,5°C). Les deux dernières espèces vivent au niveau des estuaires, des lagunes et mangroves des régions côtières où les eaux sont saumâtres.

*An. melas* se rencontre sur le littoral occidental du continent africain, alors que *An. merus* se trouve sur le littoral oriental (**Fig : 1**).

*An. gambiae s.l* (Fig. 2: e) est un moustique de taille moyenne caractérisé par :

- des pattes tachetées,
- la présence de deux taches blanches par segment abdominal en position ventrale,
- l'existence d'une bande pâle dans la 3<sup>e</sup> zone sombre de la Costa, des palpes à trois bandes pâles.

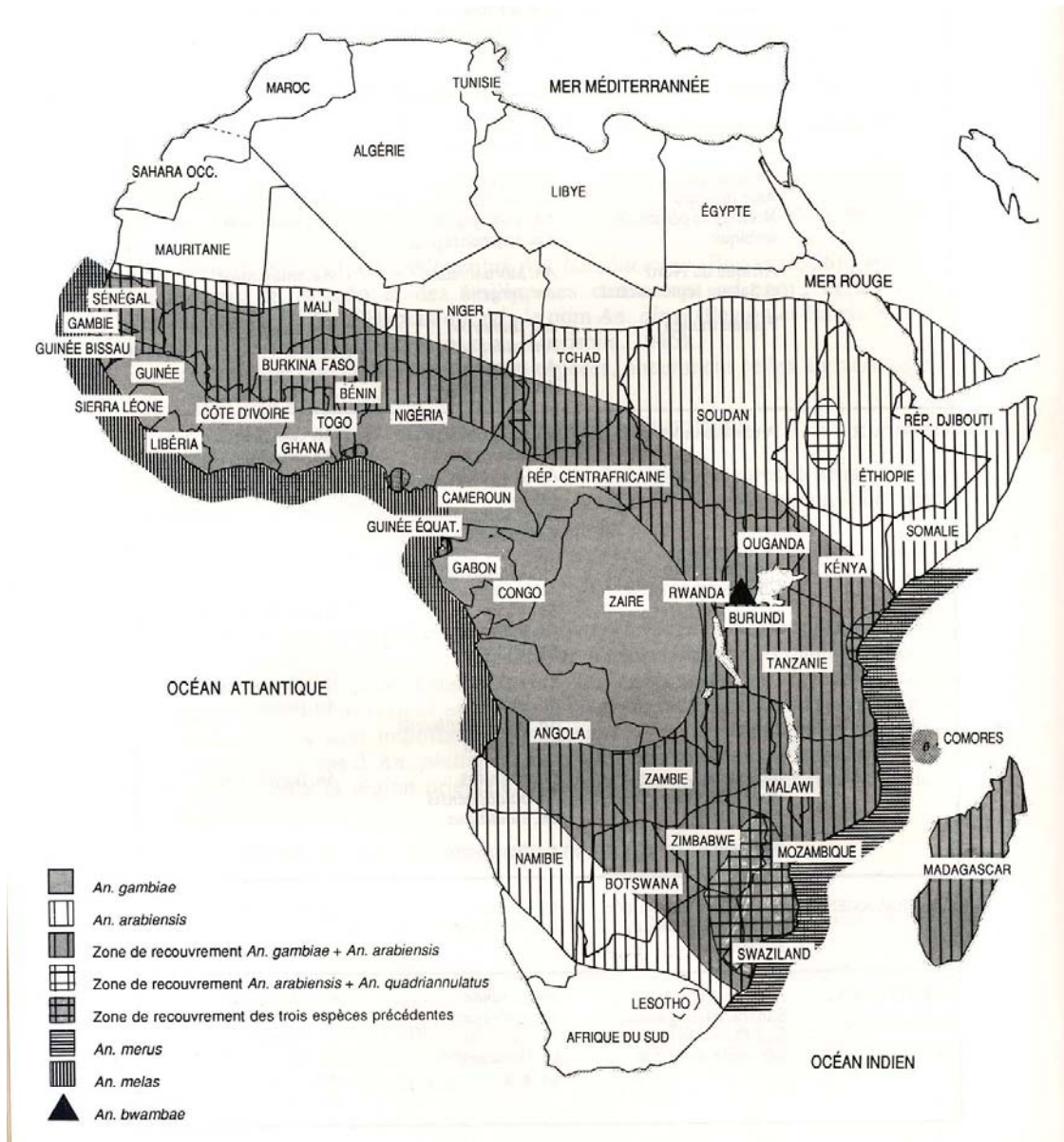
Les études chromosomiques réalisées par Coluzzi et al. (1967, 1979 et 1985) ; Hunt, (1973) ont apporté suffisamment de caractères taxonomiques pour chacune des espèces. De nos jours, l'avènement de la biologie moléculaire a facilité davantage cette identification.

❖ *Espèces du groupe Anopheles funestus:*

ce sont : *An. funestus*, *An. brucei*, *An. parensis*, *An. rivulorum*, *An. lesoni*, *An. confusus*, *An. aruni*, *An. vaneedeni* et *An. fluviatulis*. *Anopheles funestus* est le plus anthropophile et endophile du groupe (Gillies et De Meillon., 1968). Bien que ce groupe ne soit pas aussi bien étudié que *An. gambiae*, l'espèce *An. funestus* (Fig. 2: d), est impliquée aussi dans la transmission du paludisme au Mali. Elle se caractérise par :

- présence de trois (parfois quatre) bandes pâles très étroites sur les palpes des femelles ;
- quatre taches pâles dont le quart basal entièrement noir sur le Costa ;
- fémurs et tibias antérieurs noirs ;
- tarse postérieur entièrement noir ;





**Fig.1** : Distribution géographique, carte de répartition des espèces du complexe *An gambiae* en Afrique d'après Danis et Mouchet (1991), actualisé (Simard., 1999).

### 3.4. Bio-Écologie des Anophèles

Le développement de l'anophèle est caractérisé par la succession de deux phases. La première est aquatique et recouvre la vie pré-imaginale, c'est-à-dire l'œuf, les stades larvaires et la nymphe. La seconde est aérienne et concerne l'adulte ou imago.

Les mâles et les femelles se nourrissent de jus sucré, nectars et d'autres exsudats végétaux. Seule la femelle est hématophage. Les mâles fécondent les femelles qui prennent un ou plusieurs repas de sang (selon les espèces) et vont pondre dans les gîtes les plus proches. Les larves nouvellement émergées deviennent des adultes au bout de 9 à 20 jours pour *An. gambiae* (Holstein, 1949 ; Yaro, 2007) et 3 semaines pour *An. funestus*, à la température de 27°C.

#### 3.4.1. L'œuf (Fig. 2: a)

Un moustique femelle ne copule qu'une fois en général. Habituellement, après la copulation, elle a besoin d'un repas de sang pour la maturation de ses œufs. Ce repas sanguin est généralement renouvelé tous les deux à trois jours. A chaque ponte, 80 à 300 œufs sont déposés un à un à la surface de l'eau par la femelle (Bates, 1949 ; Clements, 1963 ; Yaro et al, 2006b) qui peut pondre entre 800 et 1000 œufs au cours de sa vie (Goma, 1966 ; Rodhain & Perez., 1985). Un œuf d'anophèle mesure environ 0,5 mm de long et est muni de deux flotteurs latéraux remplis d'air. L'œuf est protégé par plusieurs enveloppes particulières ne lui permettant pas de résister à la dessiccation, à la chaleur ou au froid (Bates, 1949 ; Rodhain & Perez., 1985).

### \* Gîtes larvaires

Les gîtes ou sites d'ovipositions sont des collections d'eau qui permettent le développement des stades aquatiques des vecteurs. Ces sites sont très variables et c'est à la femelle que revient le choix du gîte. Mais les facteurs environnementaux qui déterminent les gîtes favorables sont d'ordre biologique, chimique et physique (Bates, 1949). Les anophèles préfèrent des collections d'eau calme : les différents types de gîtes sont :

- gîtes permanents en eau toute l'année et gîtes temporaires (asséchés par exemple en saison sèche) ;
- gîtes naturels avec ou sans végétations (mares, rivières, creux d'arbre, etc...) et des gîtes artificiels (récipients de stockage d'eau, boîtes de conserves abandonnées, empreintes de pas). Une catégorie intermédiaire étant les gîtes naturels créés par l'homme (canaux, rizières).

#### 3.4.2. La larve (Fig. 2: b)

Une larve émerge de chaque œuf au bout de deux jours en général (Holstein, 1949 ; Yaro et al, 2006a) et flotte parallèlement à la surface de l'eau pour respirer. Elle se nourrit de particules présentes dans l'eau. Mesurant à peine 1mm, les larves jeunes sont noires et présentent une collerette claire très nette qui persiste jusqu'au 3<sup>ème</sup> stade (Holstein, 1949). Les larves subissent trois mues consécutives qui, par des modifications morphologiques qu'elles engendrent, les conduisent au 4<sup>ème</sup> stade ou stade de larve adulte. Les larves d'anophèles sont sans siphon et se noient facilement dans les eaux agitées (raison du choix des eaux calmes par la femelle pondreuse). Le corps de la larve est divisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Chez *Anopheles gambiae*, la larve mesure 1 mm de long au premier stade et 5 mm au quatrième stade.

- **La tête** comprend les yeux, les antennes et les pièces buccales. Un cou membraneux sépare la tête du thorax. Selon Surtees (1959), les larves de moustiques peuvent être réparties en trois groupes en fonction du mode de nutrition : filtreur-suceur ; broyeur ; prédateur. Mais il y a aussi des larves qui utilisent plus d'un mode de nutrition comme chez les anophèles dont la larve, pour se nourrir, effectue une rotation de la tête de 180°, si bien que la bouche se retrouve juste sous la surface de l'eau. Elle filtre et ingère les particules alimentaires amenées vers la bouche par le courant de surface engendré par le battement des brosses buccales (Christopher & Puri., 1929 ; Bates, 1949 ; Cléments, 1963).

- **Le thorax** est formé de trois segments non individualisés, grossièrement sphérique et légèrement aplati dorso-ventralement.

- **L'abdomen**, cylindrique, se compose de neuf segments. Les sept premiers portent notamment des plaques dorsales sclérifiées et des soies palmées caractéristiques des anophèles. Ces soies contribuent au maintien de la larve juste sous la surface de l'eau, dans la position typique des anophèles, parallèle à la surface de l'eau, face dorsale vers le haut. Le huitième segment abdominal porte dorsalement deux orifices respiratoires, les stigmates, s'ouvrant directement au niveau d'une plaque spiraculaire. L'absence de siphon respiratoire différencie les anophèles des autres moustiques. Les stigmates respiratoires sont ouverts en surface pour autoriser le renouvellement d'air du système trachéen et fermés par des valves lors de la plongée. La respiration est aérienne. Le dernier segment abdominal porte l'anus.

Les larves ont beaucoup d'ennemis naturels : des poissons (*Gambusia affinis*, *Poecilia reticulata*) ; des bactéries (*Bacillus thurigiensis israelensis*, *Bacillus sphaericus*) ; les larves prédatrices de certaines espèces de moustiques comme les *Toxorhynchites* (Goma, 1966); etc.

### 3.4.3. La nymphe (Fig. 2: c)

En fin de quatrième stade larvaire, la cuticule se fend dorsalement et libère une nymphe, bien différente de la larve. Elle est composée de deux parties: le céphalothorax, résultant de la coalescence d'une tête non individualisée et d'un thorax globuleux, et l'abdomen. La nymphe ne se nourrit pas.

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

- **L'abdomen** comprend huit segments bien visibles, dont le huitième porte une paire de palettes natatoires. Lorsque l'abdomen se contracte brutalement, la nymphe effectue des mouvements saccadés. Les nymphes de moustiques ont des prédateurs naturels: les scarabées, coléoptères (*Cicindela octoguttata*), les mouches sauvages du genre *Lispa* (Christopher., 1960); et aussi les poissons *Ctenogobius nebulosus*, *Lairdina hopletopus* (Laird., 1956).

### 3.4.4. L'adulte (Fig. 3: d et e)

Après la vie nymphale, la cuticule du céphalothorax de la nymphe âgée se fracture dorsalement selon un plan sagittal. Les plans hydrophobes de la fracture écartent la surface de l'eau et libèrent 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 immobile, le temps que ses ailes se déploient et que la cuticule durcisse. Après une heure, il est capable de s'envoler. L'émergence dure quelques minutes et représente une phase délicate dans la vie de l'insecte en raison d'une forte mortalité par noyade. Le sex-ratio est généralement en faveur des mâles (45 femelles pour 55 mâles)

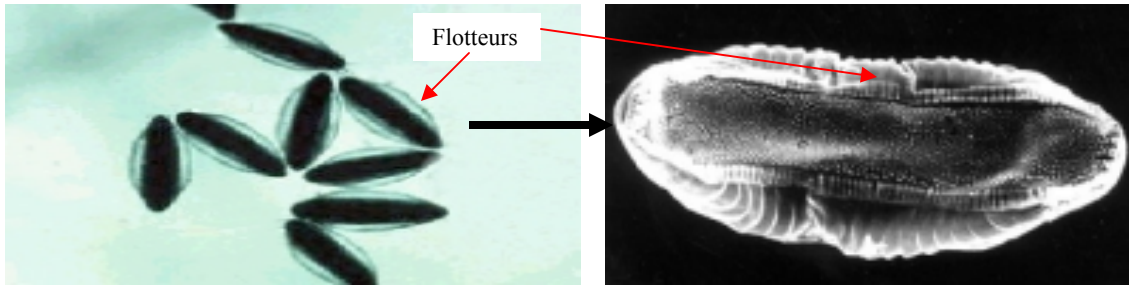
Dans la nature l'accouplement a généralement lieu dans les 24 à 48 heures après la mue imaginale. Les mâles forment un essaim qui se tient fréquemment à la verticale de points bien définis ou nettement contrastés, par exemple le sommet d'un arbre ou l'angle d'un bâtiment. La formation de l'essaim se produit en général à l'aube ou au crépuscule. Les femelles qui pénètrent à l'intérieur de l'essaim sont happées au passage et le couple ainsi constitué s'en isole en se laissant tomber. Après insémination, les spermatozoïdes sont emmagasinés dans un organe appelé spermathèque dont ils sont extraits progressivement pour féconder la totalité des œufs que la femelle produit (monogamie). Dans les meilleures conditions tropicales, la durée de vie des anophèles est de 3 à 4 semaines en fonction des facteurs climatiques de la nature. La dispersion moyenne des anophèles adultes en vol varie d'un à 10 Km par nuit (Kaufman et Briegel., 2004) et leur taille varie de 2,5 mm à 3,9 mm en générale pour *An. gambiae s.l.* (Yaro et al., 2006b). L'adulte comprend trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen.

- **La tête** : porte deux gros yeux composés, une paire d'antennes de quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle. La trompe, ou proboscis, est formée d'une pièce buccale particulière, le labium, formant une gouttière souple entourant les autres pièces buccales vulnérantes chez la femelle: l'hypopharynx, les deux mandibules et les deux maxilles. Certaines de ces pièces buccales forment deux canaux indépendants dans lesquels la circulation des fluides se fait dans des sens bien définis et inverses l'un par rapport à l'autre. Le plus gros est le canal alimentaire, délimité par le labre replié en gouttière. Le moustique y aspire le sang de l'hôte. Le plus fin est le canal salivaire, placé à l'intérieur de l'hypopharynx : la salive est injectée dans ce canal et circule depuis les glandes salivaires du moustique jusqu'à la partie distale de l'hypopharynx, à l'extrémité la plus avancée du point de piqûre dans l'hôte. Ces caractéristiques morphologiques permettent à l'anophèle femelle

d'ingérer un volumineux repas sanguin et d'injecter avec sa salive le stade infectant (sporozoïte) du Plasmodium lors de la piqûre. Deux palpes maxillaires sont situés de part et d'autre de la trompe. Chez la femelle, ils sont de la même taille que la trompe. Chez le mâle, ils sont plus longs et la partie distale est renflée en massue.

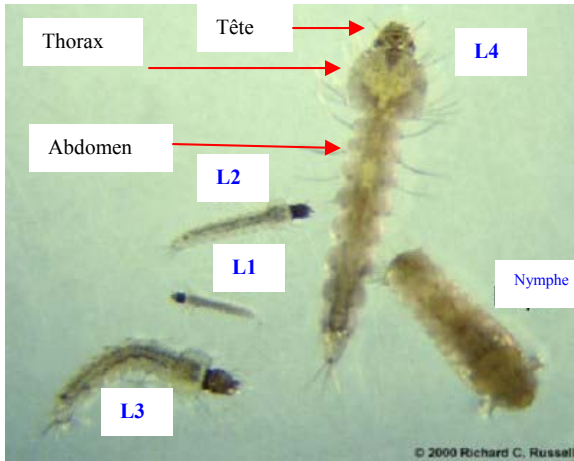
- **Le thorax** est formé de trois segments portant chacun une paire de pattes. Le premier est réduit. C'est sur le second, très développé et renfermant de puissants muscles alaires, que s'insère une paire d'ailes. Sur le troisième est placée une paire d'haltères, ou balanciers, qui est l'homologue d'une paire d'ailes postérieures atrophiées, et qui joue un rôle dans l'équilibration du vol. Les six pattes, longues et graciles, sont formées de neuf articles. Les ailes présentent de nombreuses écailles claires et sombres : leur arrangement sur le rebord costal est caractéristique des anophèles.

- **L'abdomen** est constitué de dix segments, dont sept sont bien visibles. Chaque segment est constitué d'une plaque chitineuse dorsale et d'une plaque ventrale reliées par une membrane qui autorise la dilatation de l'abdomen lors de la prise d'un repas de sang et lors de l'élaboration de la ponte dans les ovaires. Les trois derniers segments portent l'anus et les appendices génitaux, ou génitalias.

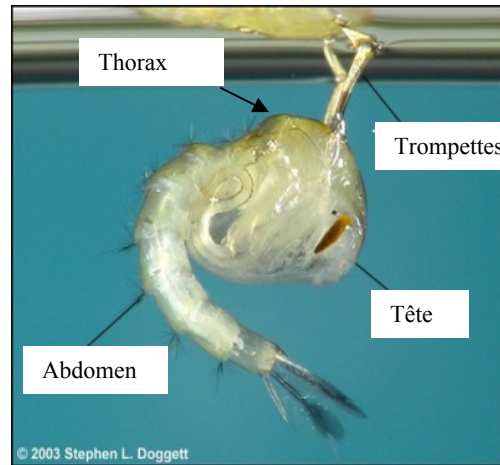


a. Œufs d'anophèles

: <http://www.lmca.us/education/lifecycle/life12.htm>

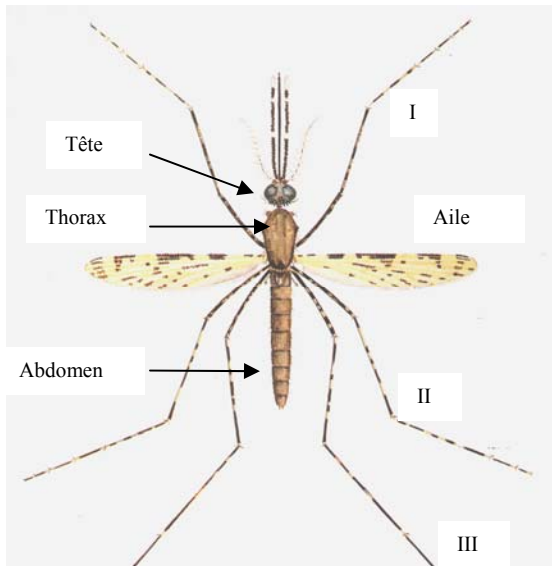


b. Larves d'anophèles



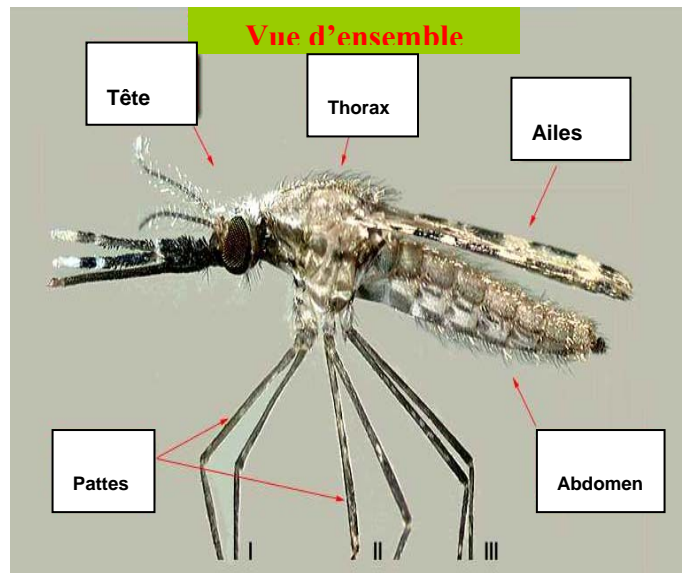
c. Nympe d'anophèles

<http://www.cdc.gov/malaria/biology/mosquito/>



*Gillies et DeMeillon, 1968*

d. Femelle adulte d'*Anopheles funestus*  
d'*Anopheles gambiae s.l*



*Hervy et al. ORSTOM*

e. Femelle adulte

**Fig.2 :** Photos montrant la morphologie des œufs (a), des larves (b), des nymphes(c) et des adultes (d et e) d'anophèles.



### 3.5. Cycles

#### 3.4.1. Cycle biologique (voir Fig. 3)

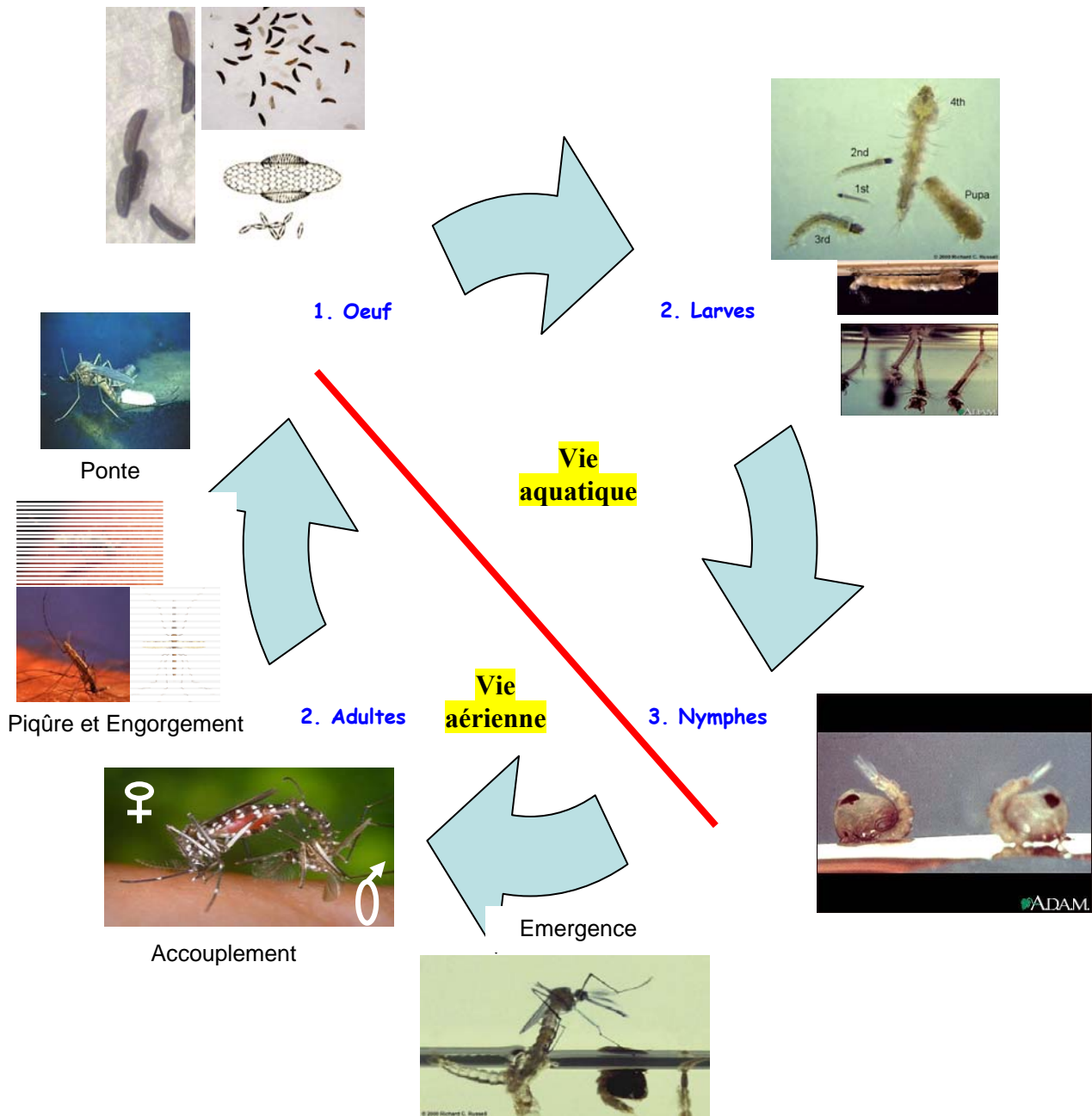
C'est un processus au cours duquel se déroulent les différentes étapes d'évolution des stades de développement du moustique. Il s'accomplit entre 9 et 20 jours pour *An. gambiae s.l* et 3 semaines pour *An. funestus*, à la température de 27°C.

#### 3.4.2. Cycle trophogonique (voir Fig. 4)

Il commence par la piqûre d'un hôte vertébré, se poursuit par la digestion du sang, la maturation des ovocytes et se termine par la ponte dans un gîte larvaire. Il dure en moyenne deux à trois jours

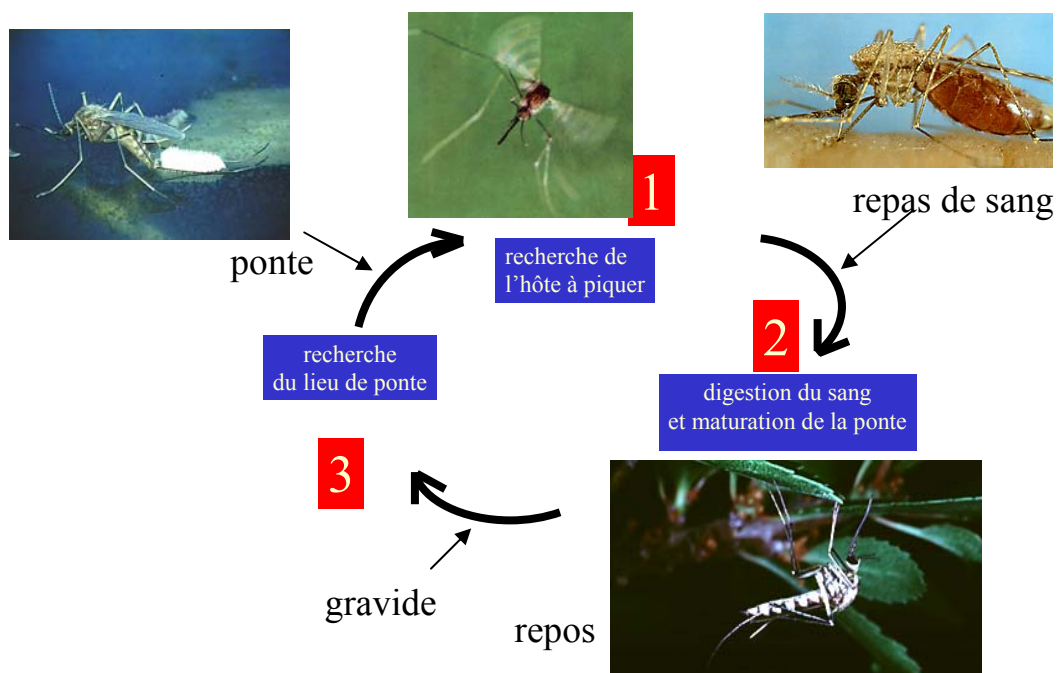
#### 3.4.3. Cycle Sporogonique (voir Fig. 5)

Il ne commence que lorsque le moustique rentre en contact avec le parasite (Plasmodium) suite à l'ingestion du sang d'un porteur de gamétocyte. Après ex-flagellation, les gamètes mâles et femelles se fusionnent pour donner un ookinète qui évolue en oocyste à l'intérieur duquel se forment les sporozoites. Ceux-ci migrent vers les glandes salivaires après éclatement de l'oocyste. La durée moyenne de ce cycle est de 11 à 15 jours.



NB : Photos tirés de: ADAM ; <http://www.cdc.gov/malaria/biology/mosquito/> (Dernière mise à jour : 7 Septembre, 04 & <http://www.lmca.us/education/lifecycle/life12.htm>

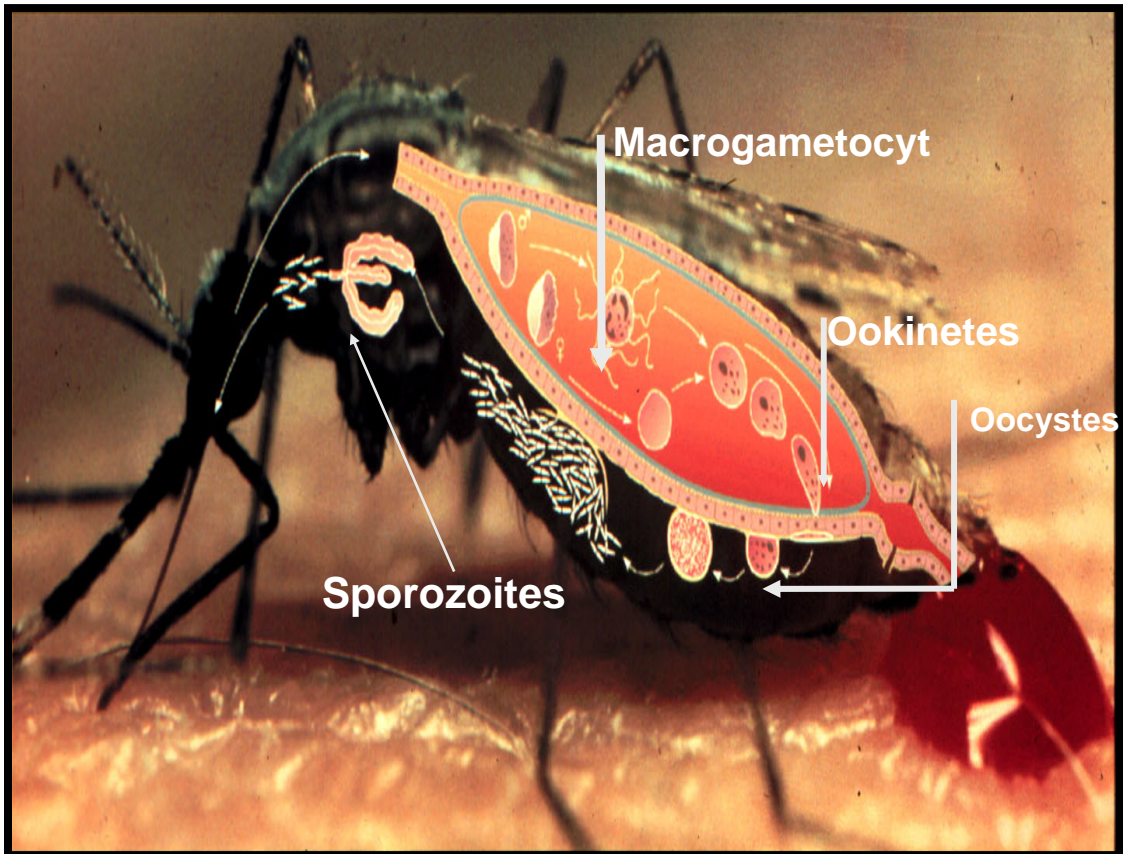
**Fig. 3 :** Cycle biologique des moustiques



Crédit Robert Vincent, Cours MIE 2006, IRSP Ouidah/ Bénin

**Fig. 4 :** Cycle trophogonique d'une femelle de moustique (3 phases)

### *Cycle sporogonique*



**Fig. 5 :** Cycle sporogonique du parasite au sein du moustique (Louis Gouagna, 2002)

### 3.6. Le parasite

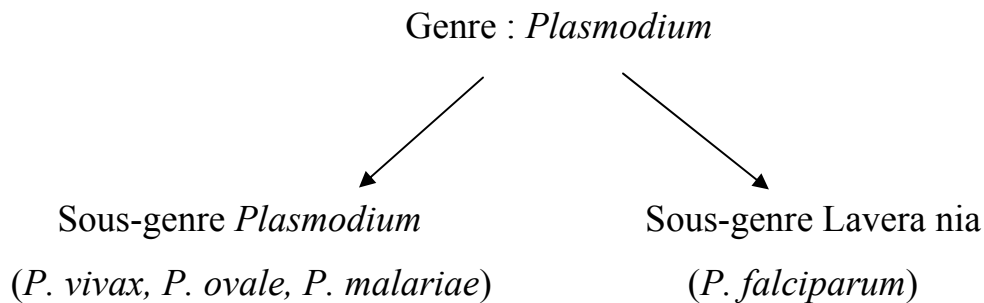
L'agent pathogène du paludisme est un hématozoaire (protozoaire qui se développe pendant une partie de sa vie dans les hématies) du genre *Plasmodium*, appartenant à l'embranchement des Sporozoa et à l'ordre des Haemosporidae. Le *Plasmodium*, aurait pour ancêtre d'origine *P. reichenowi*, un parasite de chimpanzé décrit entre 1917-1920 par Reichenow (Reichenow 1920). Cent vingt trois espèces du genre *Plasmodium* ont été répertoriées et possèdent des cycles biologiques similaires. Ce sont des parasites intracellulaires obligatoires des vertébrés transmis par des moustiques femelles.

Quatre espèces sont présentes en Afrique (*Fig. 6*):

- *Plasmodium falciparum* : C'est le plus redoutable et il prédomine partout en Afrique Subsaharienne. Il est responsable des accès pernicioeux, de la fièvre tierce maligne, de la fièvre bilieuse hémoglobinurique.
- *Plasmodium malariae* : Il est inégalement réparti en Afrique Orientale et Occidentale, surtout dans leur zone équatoriale. Il est responsable de la fièvre quarte et des néphrites quartanes.
- *Plasmodium ovale* : Il n'existe pratiquement qu'en Afrique de l'Ouest. On le trouve plus fréquemment en zone de forêt chaude et humide et infeste plus particulièrement les jeunes enfants. Il est responsable de la fièvre tierce bénigne.
- *Plasmodium vivax* : Il paraît absent actuellement d'Afrique de l'Ouest. Il domine par contre en Afrique du Nord et se rencontre en Afrique orientale et du Sud.

**\* Systématique de *Plasmodium falciparum***

Il existe quatre espèces de plasmodies capables d'infecter l'homme ayant la classification suivante : Règne des protistes, Phylum des *Apicomplexa*, Classe des Haemosporidea, Sous-classe des *Coccidia*, Ordre des *Haemosporida*, Sous-ordre des *Haemosporina*, Famille des *Plasmodidae* et au Genre *Plasmodium*.



**Le cycle biologique du *Plasmodium* humain se divise en trois phases :**

- Une phase sexuée se déroulant chez le moustique qui est l'hôte définitif (cycle sporogonique)
- Deux phases asexuées abritées par l'homme (hôte intermédiaire) ; il s'agit du cycle érythrocytaire (dans les cellules sanguines) et du cycle exo-érythrocytaire (dans les cellules hépatiques).





Source : OMS, 2002

**Fig. 6:** Photos montrant la morphologie des différentes espèces plasmodiales humaines ; **A** (*Plasmodium falciparum*), **B** (*Plasmodium malariae*), **C** (*Plasmodium ovale*), **D** (*Plasmodium vivax*)

### 3.6.1. Cycle biologique (fig.7)

Le 20 août 1897, Ronald Ross (1857-1932), médecin chirurgien du service de santé Britannique en Inde démontrait la transmission du *Plasmodium* par le moustique chez les oiseaux (White 1999). Giovanni Battista Grassi et collaborateurs confirmaient cette découverte chez l'homme par la découverte des moustiques du genre *Anopheles* comme vecteurs responsables de la transmission du *P. vivax* et *P. falciparum* (White 1999). Lorsque le moustique pique un sujet infecté, il ingère le sang avec le parasite qui subit des transformations complexes lui permettant de devenir une forme infectante pendant une période de 12 à 21 jours suivant les espèces.

Les recherches entreprises ces dernières années, pour la mise sur le marché de nouveaux médicaments et les essais de mise au point d'un vaccin antipaludique, ont considérablement enrichi la connaissance de la biologie du parasite et ses hôtes. Les Plasmodies sont des protozoaires intracellulaires.

#### 3.6.1.1. Schizogonie ou multiplication asexuée chez l'homme

##### \* *Schizogonie hépatique ou exo érythrocytaire*

Au cours de son repas sanguin, l'anophèle femelle injecte les formes infectantes du parasite contenues dans ses glandes salivaires. Ces sporozoïtes ne font que transiter une demi-heure dans les capillaires sanguins et, en 24 heures, gagnent le foie. Ils pénètrent dans les hépatocytes. Leur développement et leur multiplication repoussent en périphérie le noyau de la cellule et finit par constituer une masse multi nucléé appelée schizonte ou corps bleu. La cellule éclate, libère de nombreux mérozoïtes. Certains parasites restent quiescents dans l'hépatocyte, sans se transformer en corps bleu (hypnozoïtes). Après un temps variable, génétiquement déterminé, ces hypnozoïtes entrent en division. Ce phénomène



n'existe que chez les espèces *P. vivax* et *P. ovale*, expliquant les accès de reviviscence schisogonique tardifs.

### \* **Schizogonie érythrocytaire ou endocytaire**

Les mérocytes libérés gagnent la circulation sanguine, pénètrent par endo-cytose dans une hématie et deviennent chacun un trophozoite. Les mérozoites présentent une affinité pour tous les globules rouges, quelque soit leur stade. Le processus de pénétration du mérozoite à l'intérieur de l'hématie se fait en trois étapes : la reconnaissance, la réorientation ou l'adaptation et la pénétration qui s'accompagne de la libération du contenu des organites apicaux du mérozoites (rhoptries et micronèmes). Celui-ci se développe, grossit et son noyau se divise. Il en résulte un schizonte, qui se charge progressivement d'un pigment spécifique d'origine parasitaire, l'hemozoïne ou pigment malarique. La multiplication des noyaux forme dans l'hématie un corps en rosace. Parallèlement, apparaissent dans l'hématie selon l'espèce plasmodiale, des granulations de Schuffner (*P. vivax*, *P. ovale*), des taches de Maurer (*P. falciparum*) ou des ponctuations de Zierman (*P. malariae*). Le corps en rosace ; dilaté et mûr éclate. Cet éclatement est contemporain de l'accès thermique clinique. L'hémozoïne libérée est phagocytée par des leucocytes qui deviennent mélanifères ; Ils déversent cette charge pigmentaire dans les tissus, au niveau des cellules du monocyte – macrophage (cellules de Kupffer du foie et histiocyte de la rate). Les mérozoites libérés de l'éclatement du corps en rosace, vont parasiter chacun une nouvelle hématie et poursuivre le cycle intra-érythrocytaire. Chaque cycle schizogonique dure 48 heures chez *P. vivax*, *P. ovale* et *P. falciparum* (fièvre tierce) ou 72 heures chez *P. malariae* (fièvre quarte). Ce cycle intra-érythrocytaire est responsable de la pathologie liée au paludisme. Après plusieurs schizogonies, apparaissent dans les hématies des éléments à potentiel sexué : les gamétocytes, qui ne poursuivront leur développement que s'ils sont absorbés par un anophèle femelle.

### 3.6.1.2. Sporogonie ou multiplication sexuée chez l'anophèle

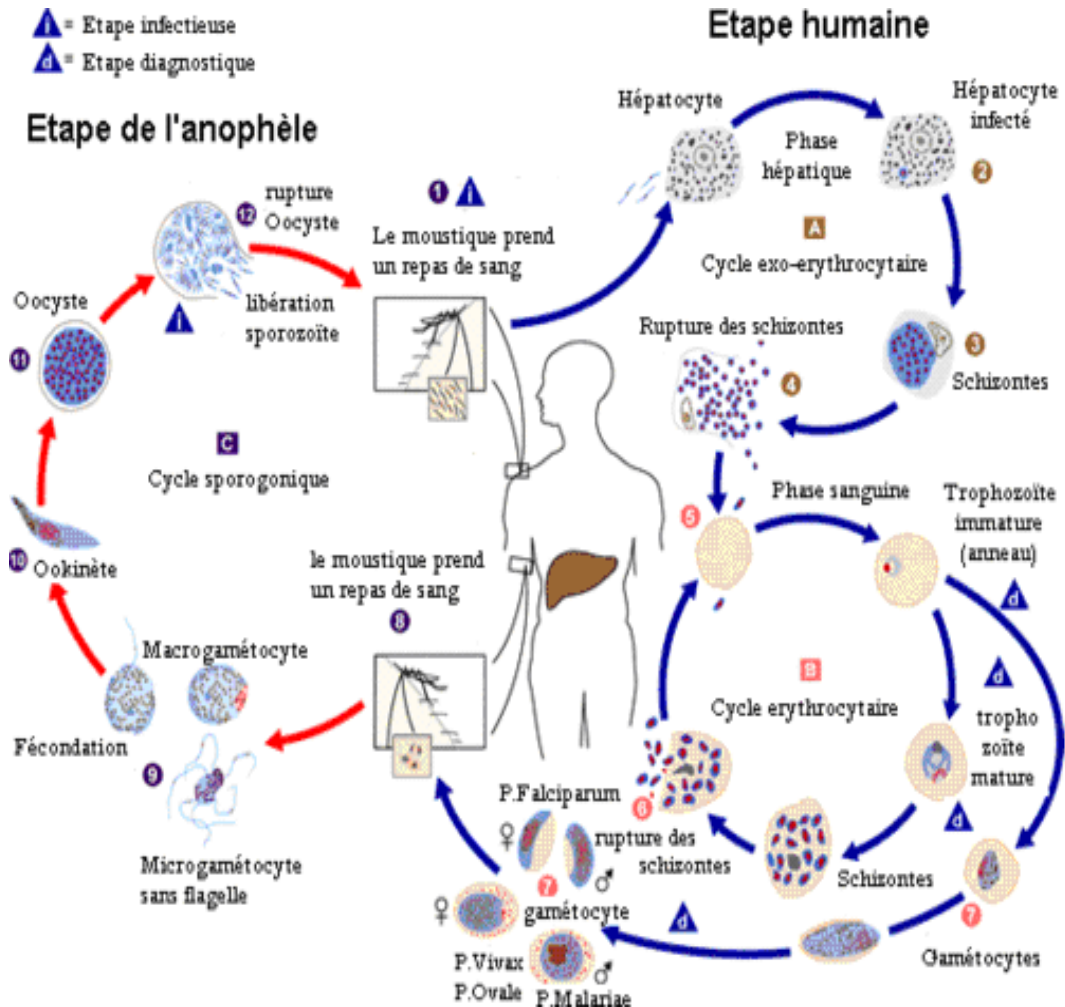
L'infection d'un anophèle femelle commence lors d'un repas sanguin pris sur un homme impaludé porteur de gamétocytes. Si d'autres stades parasites sont ingérés par l'anophèle, ils sont tués et digérés. Seuls les gamétocytes assurent la poursuite du cycle.

Dans l'estomac du moustique, les gamétocytes mâles se transforment en gamètes mâles par exflagellation, processus de bourgeonnement de flagelles (jusqu'à huit, mais ordinairement de quatre à six), qui se détachent du corps du gamétocyte mâle activé et qui constituent autant de microgamètes. Les gamétocytes femelles se transforment en gamètes femelles ou macrogamètes par expulsion de corpuscules chromatinien. Toutes ces transformations interviennent une dizaine de minutes après la prise du repas sanguin. Le gamète mâle se déplace par ses propres mouvements, rencontre un gamète femelle puis pénètre ce dernier. La rencontre va aboutir à la formation d'un zygote dans la demi-heure suivant la piqûre. Le zygote se transforme en ookinète allongé et mobile puis en oocyste.

A l'intérieur de cet oocyste se formeront plusieurs sporoblastes, dans lesquels se formeront des sporozoïtes. Au bout d'environ 10 jours, ces sporozoïtes perforeront la coque de l'oocyste avant de passer dans l'hémolymphe pour aboutir au niveau des glandes salivaires, l'anophèle femelle devient ainsi infectante.

Plusieurs facteurs influencent le développement du parasite chez le moustique. La température : en dessous de 18°C et au dessus de 35°C, le cycle sporogonique de *P. falciparum* est arrêté. A la température de 20°C, 24°C et 30°C, il est respectivement de 20, 11 et 9 jours. La densité des gamétocytes et leur pouvoir infectant, l'âge des gamétocytes (3 à 5 jours après les premières exflagellations semblent être l'optimum) et leur sexe ratio (une proportion relativement élevée de mâles est favorable à l'infection des moustiques), de même que le statut

immunitaire et le type d'hémoglobine du porteur de gamétoytes, ont aussi une influence positive sur l'infection des vecteurs.



**Figure 7 :** Cycle biologique du *Plasmodium*

Source: [http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod\\_Malaria\\_Cycle\\_fr.html](http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod_Malaria_Cycle_fr.html)

### 3.7. Lutte contre le paludisme

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

#### 3.7.1. Lutte contre le parasite

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

Les parasites résistent de plus en plus aux médicaments antipaludiques les plus usuels comme la chloroquine ou l'association sulfadoxine-pyriméthamine (WHO, 1965 ; Kouriba, 1993). Le PNLP a récemment privilégié des associations à base d'artémisinine.

L'association de deux médicaments est l'un des moyens pour limiter l'apparition des pharmaco-résistances, car le risque d'apparition simultanée d'une résistance à deux produits différents est très faible. De plus, les nouvelles combinaisons médicamenteuses parviennent à éliminer le parasite et permettent au paludéen de récupérer beaucoup plus rapidement.

### 3.7.2. Lutte contre les vecteurs

Cette lutte repose sur la rupture ou la réduction du contact homme/vecteur. Elle s'adresse à la fois aux larves ainsi qu'aux adultes.

#### 3.7.2.1. Lutte anti-larvaire

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

- biologique, Chimique physique.

##### 3.7.2.1.1.- La lutte biologique

###### . Poissons larvivores

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

###### . Bactéries Larvicides

Elles produisent des toxines qui tuent les larves après ingestion. Les bactérie

*Bacillus thurigiensis israelensis* (Bti) et *Bacillus sphaericus* sont des bactéries qui produisent des toxines très actives contre les larves par ingestion. A dose normale, elles sont sans danger pour l'homme, les autres insectes, les poissons et animaux supérieurs. Elles peuvent être utilisées dans les eaux d'irrigation des cultures vivrières et dans les eaux de boisson. Le Bti a le désavantage de n'être actif que par ingestion, puis sa densité l'entraîne au fond alors que les larves

d'anophèle se nourrissent en surface. Elle se détruit très rapidement dans le milieu naturel et doit donc être réappliquée périodiquement (OMS, 2003 ; Fillinger et al., 2003)

### 3.7.2.1.2- La lutte Physique

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

. **Le drainage**, qui consiste à faire évacuer les eaux du gîte à l'aide d'un drain vers un milieu récepteur naturel (tel qu'un cours d'eau, un terrain perméable etc...). Il a l'avantage d'évacuer rapidement les eaux et d'entraîner œufs et larves vers des milieux défavorables à leur développement où leur destruction rapide est assurée. Un récepteur naturel situé loin du gîte est souhaitable par contre, une petite distance entre récepteur naturel et gîte constitue un facteur qui limite l'efficacité de cette méthode.

. **La mise en boîte**, qui consiste à concentrer les eaux dans les tranchées, et par conséquent réduire la superficie du gîte à empoissonner.

Cette méthode est utilisée dans le cas de gîtes importants situés loin d'un milieu récepteur naturel. Cette mise en tranchée nécessite la connaissance du volume d'eau dans le gîte.

. **Le captage des résurgences**, ces résurgences proviennent de nappes artésiennes ou nappes captives.

Pour éliminer ces résurgences on peut utiliser soit :

- \* Le pompage à l'aide d'une pompe à moteur ;
- \* L'aménagement en puits ;
- \* Le drainage vers un milieu récepteur naturel.

Ces solutions sont fonction du débit de la source et de la permanence de celle-ci.

. **Le comblement**, Certains gîtes peuvent être éliminés à l'aide de matériaux (pierres, débris de construction). Cette méthode est surtout utilisée pour des gîtes

de petite superficie, et de profondeur moyenne. Ces matériaux devront souvent être transportés sur de longues distances, et nécessitent d'être compactés, ce qui élève le coût du comblement.

A part la solution de comblement, toutes les autres nécessitent souvent un travail d'entretien (désherbage, curage, mise à bord franc, etc...).

D'une façon générale, les travaux de génie sanitaire peuvent être améliorés par un reboisement au niveau des surfaces assainies.

. **Le boisement**, il est bénéfique et rentable de prévoir la plantation d'arbres, comme l'eucalyptus ou autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau de faible débit mais d'écoulement continu. (<http://lozere.org/perso/malaria/LUTTE-ANTILARVAIRE.htm>).

### 3.7.2.1.3.- La lutte chimique

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

-**Les organophosphorés** : sont les plus utilisés. Le Temephos qui a une très faible toxicité pour les mammifères a été le larvicide le plus utilisé dans le monde (OMS, 2003). Il peut être mis dans l'eau d'irrigation et a aussi été utilisé pour traiter les eaux de boisson. Il est cependant toxique pour les poissons, **Le Fenthion** : est aussi communément utilisé à condition de ne pas contaminer l'eau de boisson et les aliments.

### 3.7.2.2.- Lutte contre les adultes (ou imagos)

#### - Pulvérisations intradomiciliaires

Les pulvérisations intradomiciliaires d'insecticides restent une option valable pour le contrôle du paludisme. L'application continue d'insecticides à grandes échelles n'est pas pérennisable à cause du coût, de la résistance acquise par le vecteur et des risques pour l'environnement.

Ces pulvérisations ne peuvent être employées avec succès que lorsque :

- la majorité des vecteurs est endophile ;
- la population vectrice est sensible aux insecticides choisis ;
- une fraction importante des maisons ou des structures situées dans les aires opérationnelles offre des surfaces pulvérisables (OMS, 2003).

#### - Moustiquaires et autres supports traités par insecticides

Dans de nombreux pays la mise en œuvre des programmes de distribution de moustiquaires imprégnées (MII), fait partie d'une approche intégrée de contrôle du paludisme. Toutefois, leur mise en place nécessite une adaptation aux conditions locales.

En tant que matériel de prévention et de contrôle du paludisme, le programme des (MII) se fixe sur certains principes de base :

- protection personnelle dans les groupes à haut risque
- réduction de la transmission avec pour cible une couverture élevée

Les moustiquaires traitées aux pyrethrinoides, à cause de leur effet excito-répulsif sur la plupart des espèces vectrices, protègent plus que les moustiquaires non traitées. Les rideaux, les hamacs traités avec les insecticides pyrethrinoides réduisent le contact homme vecteur (OMS, 2003).



### - Amélioration de l'habitat humain

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

### - Répulsifs

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

### - Spirales anti-moustiques

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

### - Vêtements protecteurs

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

### 3.7.2.3.- Lutte génétique

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

Les manipulations intéressent également les plantes telles les algues qui se reproduisent dans les gîtes larvaires. Ces algues génétiquement modifiées par intégration de gènes de toxines bactériennes agissent sur les larves de moustiques.

# METHODOLOGIE

## 4- METHODOLOGIE

### 4-1 Lieu d'étude:

#### 4.1.1- Localisation géographique

La collecte des moustiques a été effectuée à Donéguébougou **Figure 8**, village situé dans la préfecture de **Kati**. Il est à environ **30 km** au Nord-Est de Bamako, la capitale du Mali (Fig.8). Il est Limité au Nord par le village de N'Garan, à l'Est par les villages de Sirababougou et de Torodo, au Sud par le village de Sirakoro, à l'Ouest par le village de Banambani. Ses coordonnées géographiques sont: **7°59'5"** longitude Ouest et **12°48'38"** latitude Nord. Les pluviométries moyennes mensuelles sont indiquées dans le tableau I.

#### 4.1.2. Historique

Le village de Donéguébougou a été fondé au 19<sup>e</sup> siècle par un chasseur du nom de Donégué Niaré. De retour d'une chasse, il trouva le site de Donéguébougou propice à l'agriculture et à la chasse. Il s'y installa et ceci près du grand puits sacré qui demeura l'unique puits du village jusqu'à son tarissement dans les années soixante.

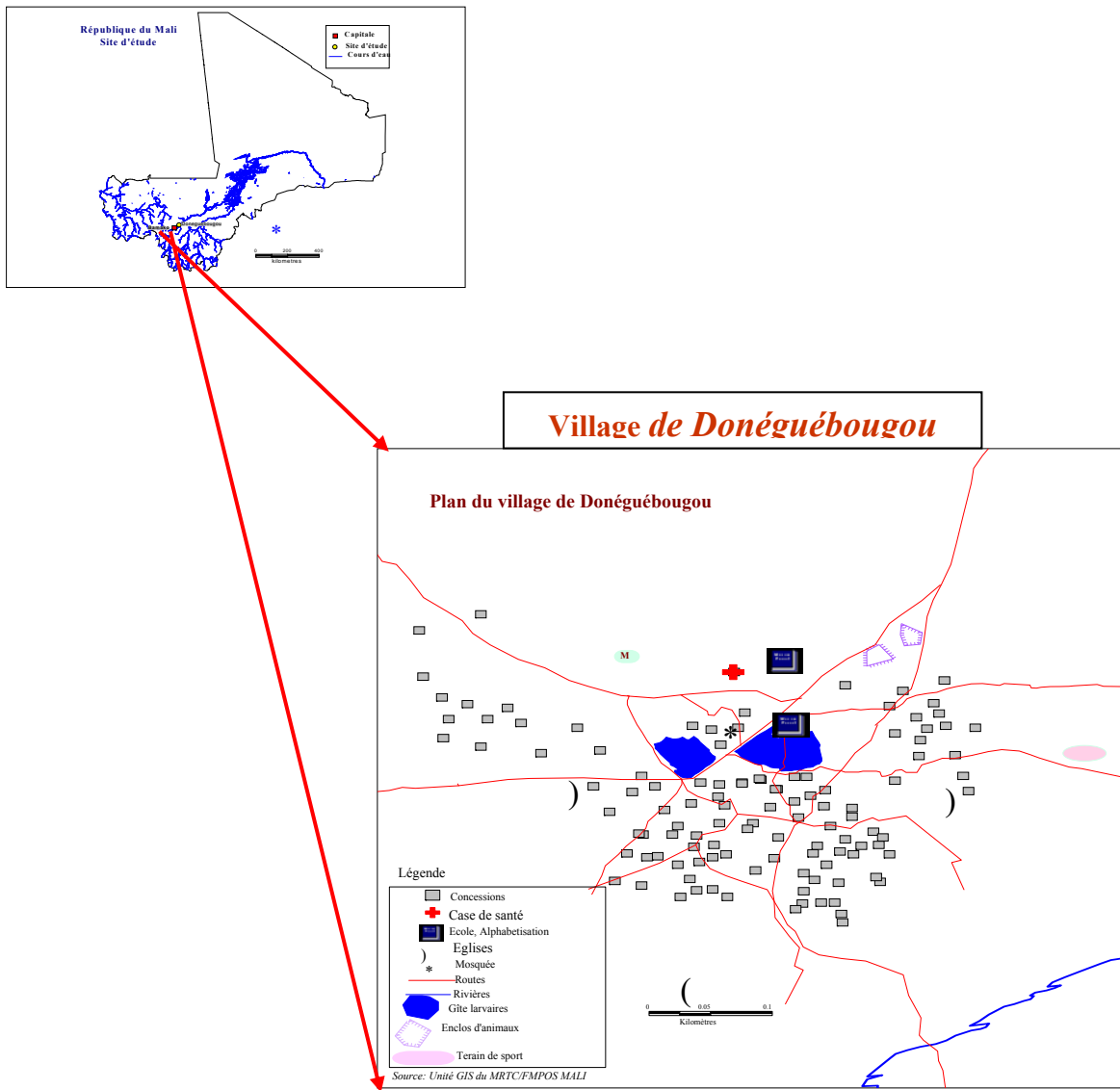
Donégué, fasciné par la chasse, est venu de Torodo, son village d'origine. Donégué et ses frères érigèrent le premier hameau du village qui a pris le nom de "Donéguébougou" qui signifie en bambara le hameau de Donégué. Plus tard les Niaré autochtones furent rejoints par les Diarra et l'unique famille Peulh du village: les Diallo.

#### 4.1.3. Relief

Il est composé par des collines de nature gréseuse, des plaines et des dépressions : le Kouloudjan, le Kouloubeni et le Kôkôfê-koulouqui sont les prolongements du plateau mandingue et culminent respectivement à 543; 415 et 400 mètres.

#### 4.1.4. Hydrographie

Le koba au Sud du village bien que temporaire constitue le principal cours d'eau. Son lit et surtout celui de ses principaux affluents révèlent par endroit des trous qui représentent de véritables gîtes larvaires pour les anophèles en saison de pluies. A l'est du village la rivière Farani et à l'ouest le Banifrani sont deux cours d'eau qui ne tarissent qu'au mois de février. Pour ce qui est du Koba son assèchement est total à partir du mois de mars.



**Fig. (8) : Carte du Mali indiquant le site de collecte des anophèles**

#### 4.1.5. Population

La population de Donéguébougou compte environ 1345 habitants dont 60% d'enfants de moins de 15 ans selon le recensement de 2006. Cette population se compose de: Bambaras (Niaré, Diarra, Coulibaly, Konaré, Traoré) majoritaires qui sont les autochtones, quelques Malinkés (Keïta) et Peulhs (Diallo).

A Donéguébougou on rencontre trois types d'habitation: des cases rondes avec toit conique en paille, des maisons rectangulaires avec toit en tôle, et des maisons rondes ou rectangulaires avec toit en terrasse.

Tous ces types de maisons constituent des lieux de repos pour les anophèles. A côté des habitations humaines, existent des enclos de branchages servant de bergerie, de petits enclos pour les porcs et la volaille.

Les coutumes locales se ramènent aux pratiques animistes (célébrations annuelles de fêtes sacrées, rites funéraires). Il existe cependant quelques musulmans, et chrétiens (protestants et catholiques).

#### 4.1.6. Climat et végétation

Le climat est du type soudanien avec deux vents dominants: la mousson venant du Sud-ouest et l'harmattan du nord-est. Ces vents divisent l'année en deux saisons: une saison des pluies qui s'étend de juin à octobre avec le maximum de pluie en août ; une saison sèche comprenant une saison sèche fraîche de novembre à février et une saison sèche chaude de mars à juin avec des températures moyennes élevées (31 - 33°C).

La végétation est une savane arborée typique du climat soudanien, très modifiée par les activités humaines.

Il existe:

- une strate herbacée composée en saison humide de hautes graminées estompant le relief; ce sont essentiellement *Pennisetum pedicellatum*, *Andropogon pseudopicus*, *Andropogon gayanus*.

- une strate arborée en voie de dégradation à cause des défrichements pour les cultures et surtout aux coupes incontrôlées du bois de chauffage. L'arbre le plus commun est *Vitellaria paradoxa* (Karité). On y trouve également: *Kaya senegalensis* (cailcedrat), *Parkia biglobosa* (Néré), *Tamarindus indica* (Tamarinier), *Bombax costatum* (Kapokier rouge), *Landolphia senegalensis* (Saba), *Sterculia setigera* (Baobab de brousse), *Isobertinia doka* et *Terminalia macroptera* (Badamier du Sénégal).

- sur les berges du koba, se retrouve des vergers, une végétation riche en lianes (*Landolphia senegalensis*) et des vestiges d'une galerie forestière.

- ❖ *Récapitulatifs des données météorologiques pendant les différentes saisons des années 2005 et 2006 (informations climatologiques de la station de Bamako : Direction nationale de la Météo du Mali).*

**Tableau I:** Relevés climatologique de la station Bamako-Sénou 2005

Mois	Température moyenne			Humidité moyenne		Pluviométrie	
	(°C)			en %		Hauteur en mm et 1/1	Nombre de Jour de pluie
	Min	Max	Moy	Min	Max		
Janvier	16.87	32.30	24.78	14.2	38.3	<b>0.4</b>	<b>02</b>
Février	21.82	36.22	29.37	16.8	38.6	<b>00</b>	<b>00</b>
Mars	22.80	39.41	31.75	17.6	48.3	<b>3.7</b>	<b>02</b>
Avril	23.48	40.64	32.92	18.0	56.57	5.2	02
Mai	24.04	38.61	31.53	29.1	78.3	29.3	10
Juin	21.99	34.34	28.15	49.8	94.4	162.9	15
Juillet	20.63	31.3	26.20	61.0	98.0	246.8	18
Août	21.33	31.06	25.52	63.7	99.0	368.8	22
Septembre	21.58	32.22	26.30	59.3	98.6	176.9	13
Octobre	20.08	35.06	26.94	39.4	98.1	40.0	06
Novembre	15.73	36.57	26.15	23.6	85.4	<b>00</b>	<b>00</b>
Décembre	18.21	35.03	26.50	16.3	48.9	<b>00</b>	<b>00</b>
Moyenne annuelles	20.713	35.23	28.009	34.066	73.539	86.166	90
Total Annuel						1033.992	90

Source : Direction Nationale de la météorologie-Bamako



**Tableau II:** Relevés climatologique de la station Bamako-Sénou 2006

Mois	Température moyenne en °C			Humidité Moyenne en %		Pluviometrie	
						Hauteur en mm et 1/10	Nombre de Jour de pluie
	Min	Max	Moy	Min	Max		
Janvier	16.53	32.91	24.48	16.6	42.5	00	00
Février	19.40	35.41	27.31	14.0	37.3	00	00
Mars	22.59	39.03	30.86	10.0	33.9	00	00
Avril	23.96	39.35	31.62	26.3	66.9	97.9	4
Mai	23.64	37.32	30.08	34.9	86.0	134.3	10
Juin	21.68	34.55	28.11	48.5	94.3	105.2	13
Juillet	20.85	32.82	26.90	57.5	97.8	105.6	15
Août	20.85	31.23	26.04	63.4	98.8	263.7	15
Septembre	20.02	31.48	25.59	61.9	99.4	340.4	16
Octobre	19.69	34.75	27.10	47.6	98.6	26.2	05
Novembre	13.33	35.83	25.45	24.2	85.8	00	00
Décembre	13.85	32.74	23.63	19.5	58.0	00	00
Moyenne annuelles	19.699	34.768	27.264	35.36	74.94	89.44	78
Total Annuel						1073.3	78

Source : Direction Nationale de la météorologie-Bamako

#### 4.1.7. Activités économiques

Les activités économiques sont essentiellement basées sur l'agriculture et l'élevage. L'agriculture est dominée par trois types de cultures :

\*Les cultures vivrières telles que le mil, le sorgho, le maïs, le riz, l'arachide, le haricot, des patates, du manioc ;

\*Les cultures maraîchères telles que la pomme de terre, la tomate, des aubergines, de l'oignon, du gombo ;

\*Les cultures fruitières telle que de la banane (*Musa acunimata*).

Les produits de cueillette sont: les noix de *Vitellaria paradoxa*, les fruits de *Parkia biglobosa*, de *Tamarindus indica*, de *Landolphia senegalensis*.

Quant à l'élevage, elle constitue une activité secondaire. Elle concerne les bovins, les caprins, les ovins, les porcins et de la volaille,

#### 4.1.8. Faune

Parmi les insectes d'importance médicale il y a :

Les *Culicidae*: *Anophèles*, *Culex*, *Aèdes*;

Les *Muscidae*: *Musca domestica*.

Parmi les vertébrés ont peu cité : les reptiles, plusieurs espèces d'oiseaux et de petits mammifères.

#### 4.1.9. Infrastructures socio-sanitaires

Le village de Donéguébougou dispose d'un dispensaire communautaire qui a été construit en novembre 1994 avec l'appui du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie à travers le projet SELF-HELP de l'Ambassade des Etats-Unis d'Amérique au Mali. Le village a été également doté d'une école fondamentale en décembre 1994 par la coopération canadienne. Les autres édifices publics sont représentés par l'église Protestante, l'église Catholique, une mosquée et par un centre d'alphabétisation.

## 4.2. Justification du choix de Donéguébougou

Donéguébougou à été choisi pour les raisons ci-après :

\*Depuis plus de vingt ans ce village fait l'objet de plusieurs études entomologiques. Ces études ont montré qu'*An. arabiensis* et *An. gambiae s.s.* vivent en sympatrie dans cette localité ; ce qui est un facteur favorable à l'échantillonnage de la présente étude.

\*La proximité fait de ce village un site accessible en toute saison de l'année.

\*Les relations sociales tissées par le MRTC avec les autorités locales de Donéguébougou ont créé un environnement agréable de travail dans la cohésion et la sérénité.

## 4.3. Type d'étude

C'est une étude expérimentale menée en conditions de laboratoire (Insectarium) en utilisant des moustiques sauvages capturés à Donéguébougou.

## 4.4. Période d'étude et échantillonnage

Cette étude a duré deux saisons de transmission : d'août à décembre 2006 ; puis d'août à décembre 2007. L'échantillonnage était de type aléatoire.

### 4.4.1. : Gestion et analyse des données

Les données collectées ont été enregistrées sur des fiches de base conçues à cet effet. Elles ont ensuite été saisies et analysées en utilisant le logiciel SPSS version 12.0 ; le logiciel Excel 2000 a été utilisé pour les représentations des tableaux.

Les tests statistiques utilisés sont :

-Le khi-carre ( $\chi^2$ ) de Pearson pour la comparaison des taux et proportions ; le test ANOVA pour la comparaison des moyennes ; le risque alpha est fixé à 5 % (0,05)

#### 4.5. Collecte des moustiques

La faune résiduelle d'anophèles femelles était régulièrement collectée trois fois par semaines durant toute la durée de l'étude. Seuls les adultes gorgés, gravides et semi-gravides ont été capturés à l'aide d'aspirateur à bouche de type Coluzzi et Petrarca, 1973 entre 08 heures et 12 heures. Les moustiques capturés étaient gardés dans des cages moyennes en plastique placés dans une caisse en bois recouverte d'une serpillière humide. Ils ont été morphologiquement triés et seulement les femelles gorgées, semi gravides ou gravides d'*Anophèles gambiae s.l* ont été retenues. Ces femelles triées ont été ensuite acheminées à l'insectarium du MRTC, où elles étaient gardées pendant 48 heures sous un régime quotidien de jus sucré à 5% avant de les mettre en ponte individuelle.



**Figure 9: Aspirateur type Coluzzi et Petrarca (1973)**

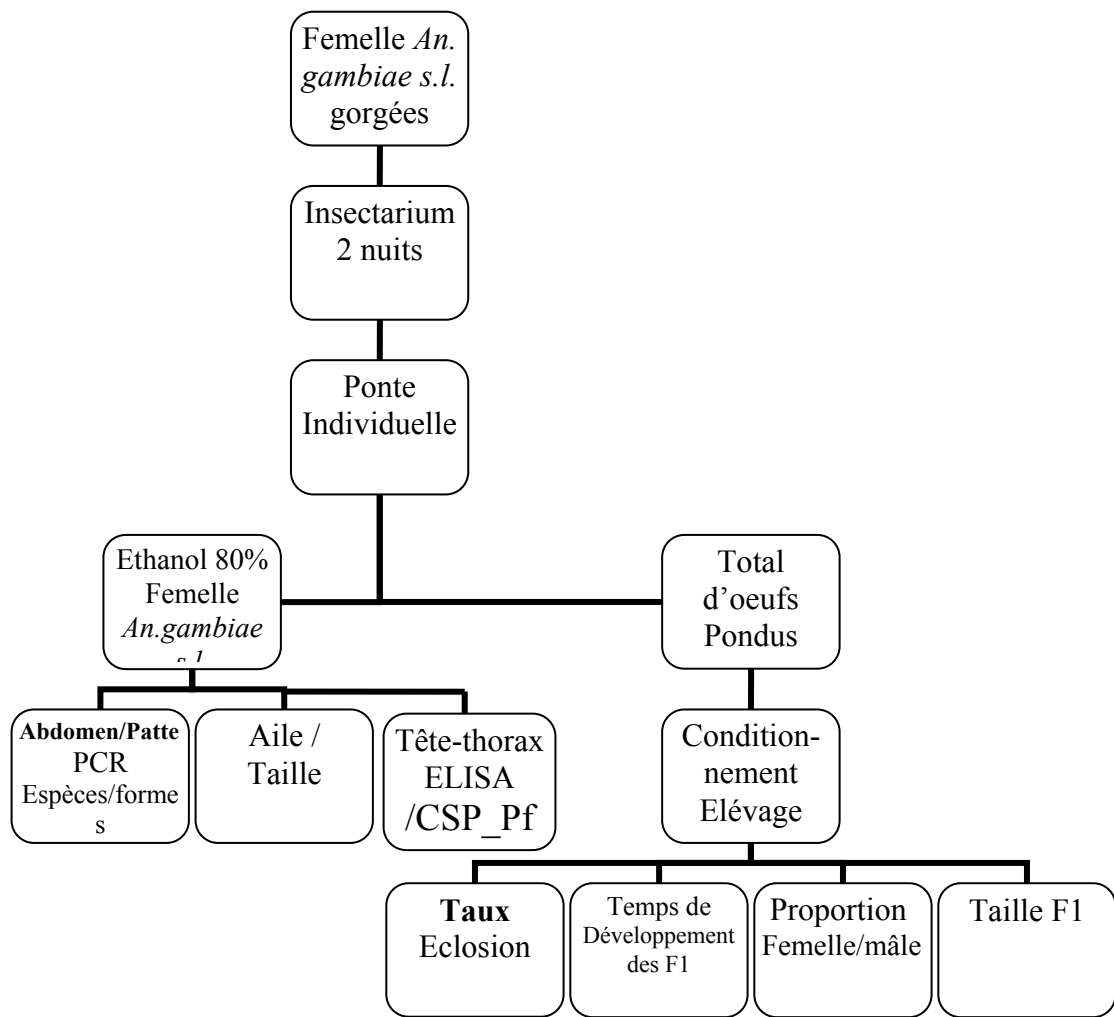
#### 4.6. Traitement au laboratoire (voire Diagramme ci-dessous)

##### 4.6.1. Mise en ponte et collecte des œufs

Les moustiques ont été gardés à l'insectarium deux jours après la capture pour que le maximum de femelles atteigne le stade gravide. Chaque femelle gravide a été individuellement mise dans un tube Falcon de 50ml contenant un papier buvard humecté d'eau distillée (pondoir) pour faciliter la ponte. Très tôt le lendemain, toutes les femelles ayant pondu ont été numérotées et gardées individuellement dans des tubes contenant de l'alcool à 80%. Les œufs de chaque individu ont été comptés sous une loupe binoculaire. Le nombre d'œufs et toutes les autres informations nécessaires (date de ponte, numéro d'identification de la femelle mère, aspect des œufs, nombre d'œufs blancs et nombre d'œufs reposant

au fond du tube) ont été enregistrés sur des fiches élaborées à cet effet. Après le décompte des œufs pondus par chaque femelle sauvage, seuls les œufs viables (brûnâtes et flottants) ont été retenus. Les œufs blancs (non fécondés), et les œufs reposant au fond du tube (non viables) n'ont pas été inclus dans l'étude. Les œufs viables ont été transférés par femelle mère dans des plateaux en plastique contenant 500ml d'eau déionisée pour leur éclosion.

La portion tête-thorax de toutes les femelles ayant pondu a été traitée à l'ELISA-CSP (*Circum-sporozoite protein*) pour détecter celles qui étaient infectées par *Plasmodium falciparum*. L'abdomen ou une des pattes des mêmes femelles a été traitée à la PCR (réaction de *polymérisation en Chaîne*) pour la détermination des espèces et formes moléculaires.



**Figure 10 : Diagramme du protocole d'étude**

#### 4.7. Identification des groupes de comparaison

Un groupe constitué par l'ensemble des moustiques infectés appelé groupe **Test** a été immédiatement identifié après le test ELISA. Le second groupe témoin a été constitué par des moustiques négatifs au test ELISA, choisis de façon aléatoire à partir de la fiche de test ELISA.

Au sein de chaque groupe, la forme moléculaire M (essentiellement composée de la forme chromosomique Mopti) a été comparée à la forme moléculaire S (composée des formes chromosomiques Savane et Bamako) et à *An. arabiensis*.

#### 4.8. Elevage

Les œufs de chaque individu ont été comptés sous la loupe binoculaire puis conditionnés séparément dans un plateau NALGENE (L=30cm, l=25cm, profondeur=6cm) contenant 500 ml d'eau distillée pour l'élevage des larves. L'élevage a été fait dans un des insectariums de *Malaria Research and Training Center* (MRTC) à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie. Ils ont été maintenus à une température de  $27^{\circ}\text{C}\pm 1$  et une humidité relative oscillant entre 75 - 85%. L'insectarium est illuminé 12 heures sur 24 heures pour simuler l'alternance jour et nuit. Les deux groupes assignés au même traitement n'étaient différents que par l'effet du facteur d'infection et de l'espèce ou la forme moléculaire.

Les plateaux ont été placés de façon aléatoire dans l'insectarium. Les larves obtenues ont été élevées dans les mêmes conditions d'hygrométrie, de température et de nutrition (nourriture à base de lait, calcium et de sels minéraux, le **Friskies**<sup>®</sup>). La quantité de la nourriture augmente avec le stade d'évolution des larves.

#### **4.9. Détermination du taux d'éclosion et du temps de développement larvaire :**

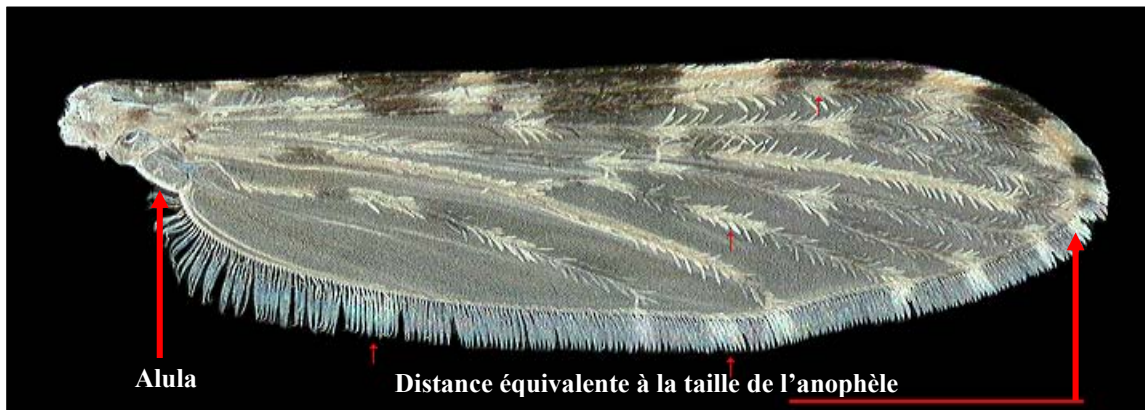
Le taux d'éclosion est déterminé en faisant le rapport entre le nombre total de larves observées après **48 heures** et le nombre total des œufs conditionnés, car la plupart des œufs s'éclosent dans ce délai (Holstein. (1949), Yaro. et al., (2006a).

Le développement larvaire a été déterminé en comptant le nombre de jours qui sépare l'éclosion et l'émergence des imagos de la première génération (F 1).

Le nombre de larves mortes était noté par stade de développement et par numéro de moustique. Le sexe ratio a été déterminé en faisant la proportion moyenne des imagos mâles et femelles pour chaque groupe de comparaison. L'ensemble des imagos **F1** à été conditionné sur du silicagel et certains ont été utilisés en PCR pour un test de confirmation d'espèces et de forme moléculaire.

#### **4.10. Détermination de la taille des moustiques**

De façon conventionnelle, les entomologistes admettent que la dimension de l'aile d'un insecte correspond à sa taille. Sur cette base, la taille de l'ensemble des moustiques a été déterminée en mesurant une de leurs ailes. Cette mesure à été faite sous une loupe binoculaire dont l'un des oculaires comporte une règle millimétrée. Les ailes étaient d'abord bien étalées dans le sens horizontal sur la face ventrale, sur une lame porte objet puis recouvertes d'une lamelle, une goutte de vernis incolore et collant permet de les maintenir intact. Les repères de mesure ont été les mêmes que celles utilisées par Briegel (1990), Jahan et Hurd , (1997), Yaro et al., (2006b) . Il s'agit de mesurer la distance séparant le point ALULA (creux au niveau du bout de l'aile rattachée au thorax) du bout inférieur de l'aile (vers l'abdomen). La taille de toutes les femelles mères incluses dans l'expérience a été mesurée, mais pour les F1, 5 imagos (mâles + femelles) tirés au hasard par femelle mère ont été mesurés.



(Photo de Hervy et al., CD ROM IRD)

Figure 11 : Photo d'une aile d'*Anopheles gambiae s.l* montrant la distance mesurer pour la détermination de la taille de l'anophèle.

#### 4.11. Identification moléculaires des espèces de moustiques

L'abdomen des spécimens d'*An.gambiae s.l* a été utilisé en PCR pour déterminer l'espèce A (*An.gambiae s.s*) et l'espèce B (*An. Arabiensis*). L'avantage de cette technique réside dans le fait quelle permet d'identifier l'espèce quel que soit le sexe, l'état de réplétion et le stade de développement (larves ou adultes).

La technique (Scott et al., 1993) consiste à extraire, amplifier et révéler des bandes d'ADN des moustiques . La révélation se fait à partir de l'électrophorèse du produit de l'amplification (*Annexe 2*).

#### 4.12. Determination du statut d'infection des moustiques

L'ELISA (*Enzyme –linked immuno sorbent Assays*) a été la technique utilisée. Elle permet la recherche de *Plasmodium* chez l'anophèle par la détection de protéines de surface ou protéines circum sporozoites (**CSP**) exprimées par les sporozoïtes.

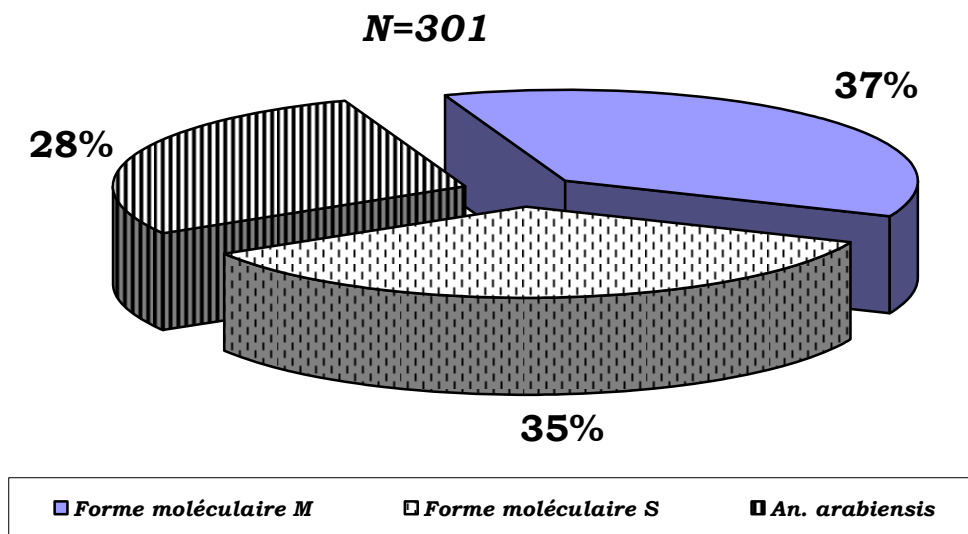


# RESULTATS

## 5- RESULTATS

### 5.1. Composition de l'échantillon

Cette étude a porté sur un total de 217 femelles d'*An. gambiae s.s.* (97 infectées, 120 non Infectées) et 84 femelles d'*An. arabiensis* dont 32 infectées et 52 non infectées. Soit un total de 301 femelles sauvages. Parmi les femelles infectées sélectionnées, 51 étaient de la forme moléculaire M et 46 de la forme moléculaire S tandis que dans le groupe des non infectés, 61 étaient de la forme M et 59 femelles de forme moléculaire S.



**Figure 12:** Fréquences d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.* dans la population d'étude.

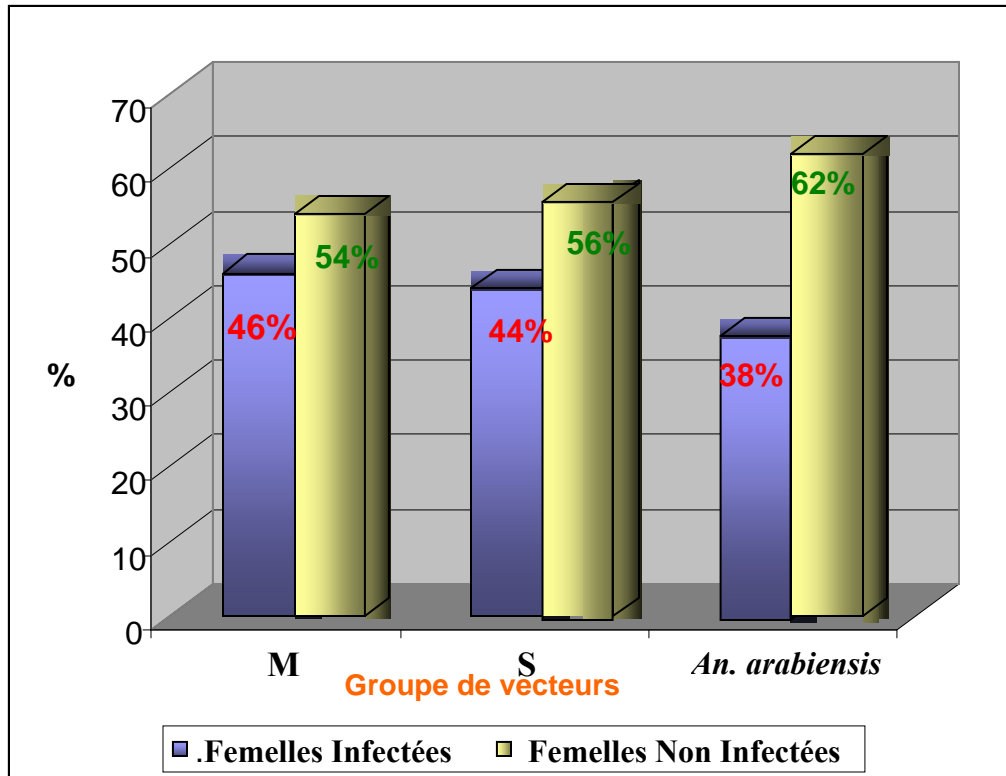
Cette figure montre la proportion des trois vecteurs comparés au sein de la population d'étude. Ainsi, il ressort que sur 301 spécimens inclus, 37% étaient constitués par la forme moléculaire M ; 35% de la forme moléculaire S et 28% d'*An. Arabiensis*.

**Tableau III :** Fréquences des vecteurs en fonction du statut d'infection par *P. falciparum*

Espèces	Formes	<i>Femelles infectées</i>		<i>Femelles Non infectées</i>	
		N	%	N	%
<i>An. gambiae s.s</i>	M	51	39,5	61	35,5
	S	46	35,7	59	34,3
<i>An. arabiensis</i>		32	24,8	52	30,2
<b>Total</b>		<b>129</b>	<b>100</b>	<b>172</b>	<b>100</b>

Ce tableau montre les fréquences des formes moléculaires M, S et *An.arabiensis* dans les populations de femelles infectées et des femelles non infectées par *Plasmodium falciparum*.

Sur 129 femelles infectées les proportions de M, S et *d'An.arabiensis* ont été respectivement de 39,5%, 35,7%, 24,8%. Dans la population des femelles non infectées, 35,5% étaient de la forme moléculaire M ; 34,3% constituaient la forme moléculaire S et 30,2% *d'An. arabiensis*.



%=pourcentage

**Figure 13 :** Proportion de femelles infectées et de femelles non infectées d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M, S d'*An. gambiae s.s.* au sein de l'échantillon global.

Cette figure montre le pourcentage des femelles infectées par rapport aux femelles non infectées au sein de la population totale de chaque vecteur.

Il ressort que 38% (N=84) des femelles d'*An. arabiensis* étaient infectées ; 46% (N=112) des femelles M et 44% (N=105) des femelles S étaient également infectées par *Plasmodium falciparum*.

Au niveau de chaque groupe de femelles, infectées et non infectées, les analyses statistiques ont montré qu'il y' avait une différence significative entre les proportions des femelles infectées (38%) et non infectées (62%) d'*An.arabiensis* (P=0,03 ; ddl=1). Par contre, à l'intérieur d'une même forme moléculaire (M, S) les proportions de femelles infectées étaient comparable à celles des non infectées.

## 5.2. Paramètres de comparaison

### 5.2.1. Nombre d'Œufs pondus et les taux d'éclosion.

#### 5.2.1.1. Nombre d'Œufs pondus

Les résultats suivants portent sur la comparaison du nombre moyen d'œufs pondus entre les femelles sauvages infectées et non infectées à l'intérieur de chaque groupe de vecteurs (*An. arabiensis*, forme moléculaires M et S).

**Tableau IV:** Comparaison du nombre moyen d'œufs pondus par les femelles sauvages d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M, S d'*An. gambiae* s.s. infectées et non infectées.

Espèces	Formes	Femelles <i>Infectées</i>		Femelles <i>Non Infectées</i>		P
		Moy d'œufs	N	Moy d'œufs	N	
<i>An. gambia</i> s. s.	M	157±7,29	51	168±6,7	61	0,26
	S	157±9,1	46	148±8,9	59	0,48
<i>An. arabiensis</i>		149±9,9	32	149±8,2	52	-
<b>P</b>		<b>0,78</b>		<b>0,13</b>		

*Moy* = moyenne

Le nombre moyen d'œufs pondus a varié entre 149± 9,9 et 157± 7,29 pour le groupe des femelles infectées tandis que pour les femelles non infectées, il a varié entre 149± 8,2 et 168± 6,7.

Au niveau de chaque groupe de femelles, infectées et non infectées, les analyses statistiques ont montré que le nombre moyen d'œufs pondus était comparable entre M, S et *An.arabiensis* respectivement ( $p=0,78$ ,  $p=0,13$ ). De même, le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles M, S et *An.arabiensis* était comparable entre infectées et non infectées respectivement ( $p=0,26$ ,  $p=0,48$ ).

### 5.2.1.2. Taux d'éclosion.

Le taux d'éclosion exprime la proportion d'œufs éclos sur le total d'œufs viables conditionnés. Il est obtenu par la formule suivante :

**-Taux d'éclosion** = Nombre d'œufs éclos x100/ Nombre total d'œufs conditionnés.

**Tableau V:** Comparaison du taux d'éclosion d'œufs pondus par les femelles sauvages (M, S, *An. arabiensis*) infectées et non infectées.

Espèces	Formes	Femelles <i>Infectées</i>		Femelles <i>Non Infectées</i>		P*
		Taux d'éclosion %	N	Taux d'éclosion %	N	
<i>An. gambiae s.s.</i>	M	68	8019	60	10260	0,00
	S	51	7222	49	8744	0,01
<i>An. arabiensis</i>		61	4757	52	7729	0,00
		P <sup>#</sup> <sub>=0,001</sub>		P <sup>#</sup> <sub>=0,001</sub>		

P\*= valeur de p entre les groupes infectés et non infectés du même vecteur.

P<sup>#</sup>= valeur de p entre les différents vecteurs par groupe : infectés et non infectés.

Ce tableau montre que, quelque soit le groupe de vecteurs (M, S et *An.arabiensis*), le taux d'éclosion chez les femelles infectées est statistiquement plus élevé que celui des femelles non infectées (voir tableau ci-dessus pour les probabilités

Pour les groupes de vecteurs M, S et *An. arabiensis* les taux d'éclosion ont été de 68%, 51% et 61%, respectivement, chez les femelles infectées. Ces taux ont été de 60%, 49% et 52%, respectivement, chez les femelles non infectées.

### 5.2.2. Développement larvaire

**Tableau VI :** Comparaison de la durée moyenne du développement des larves issues des femelles d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S infectées et non infectées.

Espèces	Formes	<i>Femelles Infectées</i>	<i>Femelles Non Infectées</i>	P
		Nombre de jour moyen	Nombre de jour moyen	
<i>An. gambiae s.s.</i>	M	10,61± 0,2	10,57±0,2	0,9
	S	9,59±0,3	10,08±0,2	0,2
<i>An. arabiensis</i>		9,72± 0,3	9,65± 0,2	0,8
P		0,3	0,5	

En moyenne, les larves des femelles aussi bien infectées que non infectées devenaient des imagos entre neuf jours et demi et dix jours et demi.

Le temps de développement des larves issues des femelles infectées et non infectées d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S était statistiquement comparable au sein des groupes de comparaison des vecteurs du même groupe (P=0,9 ; P=0,2 ; P=0,8 ddl=2) et différents (P=0,3 ; P=0,5 ; ddl=1).

### 5.2.3. Dénombrement des imagos F 1, sexe ratio et mesure des tailles d'Anophèles sauvages.

Le nombre moyen d'imagos infectés (**50,50**) est comparable à celui des non infectés (**54,31**) avec  $P=0,402$  ;  $ddl=1$ .

Le sexe –ratio chez les progénitures de la première génération issue des femelles sauvages en fonction du statut d'infection et par forme moléculaire, a été déterminé après dénombrement.

**Tableau VII:** Répartition par sexe des imagos F1 issus des larves des femelles sauvages d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s* infectées et non infectées

Espèces	Formes	<i>Imagos des femelles infectées</i>			<i>Imagos des femelles non infectées</i>		
		Femelles	Mâles	Effectif	Femelles	Mâles	Effectif
<i>An.gambiae s.s</i>	M	1559 (54%)	1352 (46%)	<b>2911</b>	1805 (53%)	1597(47%)	<b>3402</b>
	S	1417 (55%)	1176 (45%)	<b>2593</b>	1837 (55%)	1475(45%)	<b>3312</b>
<i>An. Arabiensis</i>		768 (55%)	636 (45%)	<b>1404</b>	1337(51%)	1291 (49%)	<b>2628</b>

Bien que les tests statistiques n'aient montré aucune différence significative entre les groupes infectés ( $p=0,8$ ) et non infectés ( $p=0,08$ ), le « sexe- ratio » a été à la faveur des femelles au sein de chaque groupe de comparaison ( $P < 0,001$ ).



**Tableau VIII :** Comparaison de la taille moyenne des femelles sauvages d'*An.arabiensis* et des formes moléculaires M et S infectées et non Infectées.

Espèces	Formes	<i>Femelles Infectées</i>		<i>Femelles Non Infectées</i>		P
		Taille moy. (mm)	N	Taille moy. (mm)	N	
<i>An. gambiae s.s</i>	M	3,24 ± 0,023	51	3,27 ± 0,023	61	<b>0,64</b>
	S	3,21 ± 0,032	46	3,21 ± 0,022	59	-
<i>An. Arabiensis</i>		3,25 ± 0,021 <b>P<sup>#</sup> = 0,77</b>	32	3,22 ± 0,026 <b>P<sup>#</sup> = 0,31</b>	52	<b>0,71</b>

*P<sup>#</sup>* = valeur de P entre les différents vecteurs par groupes : infectés et non infectés.

L'analyse de ce tableau montre que l'ensemble des femelles avaient une taille comprise entre 3,21 mm et 3,27 mm. La taille moyenne des femelles infectées et non infectées d'*An. arabiensis* et les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.* était comparable non seulement au sein du même vecteur, mais aussi entre les différents vecteurs.

**Tableau IX :** Comparaison de la taille moyenne des imagos F1 issus des larves des femelles sauvages *d'An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S infectées et non infectées.

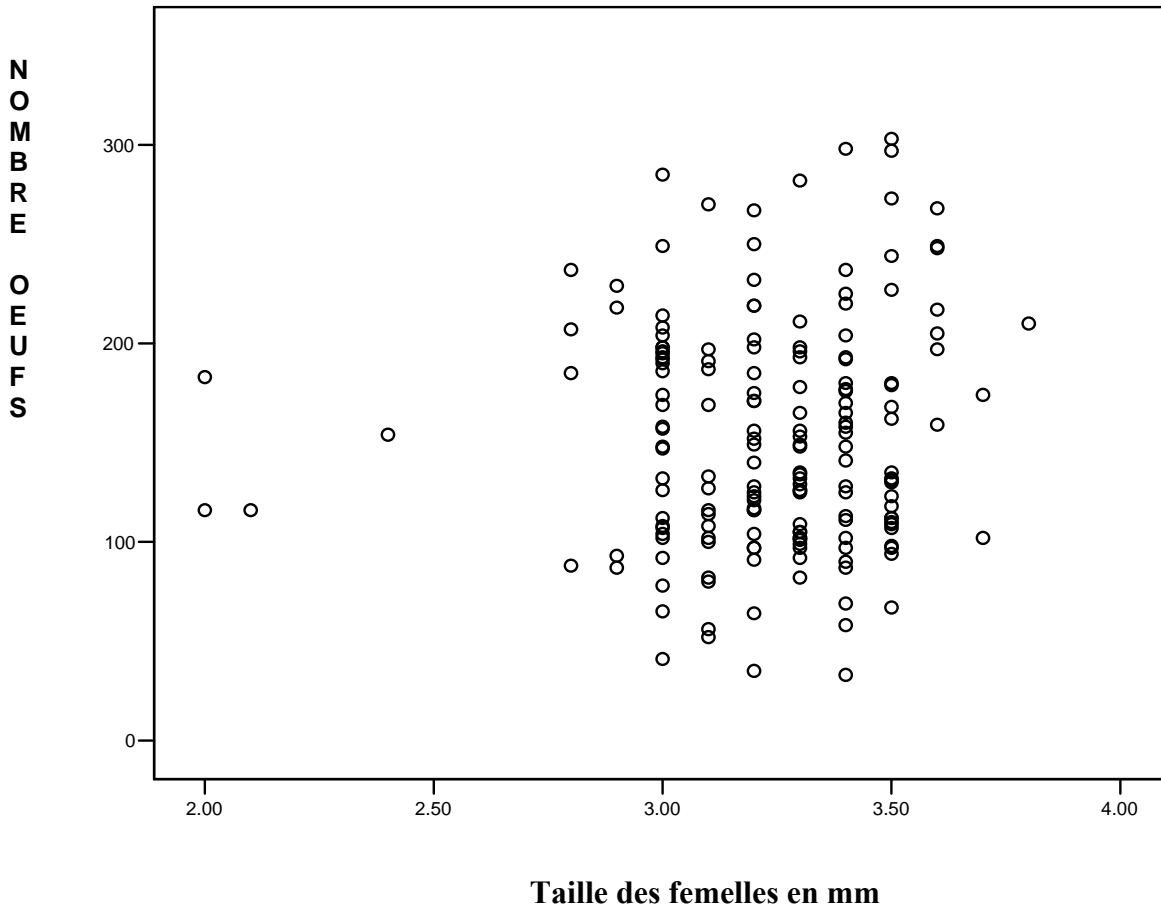
Espèces	Formes	<i>Femelles Infectées</i>		<i>Femelles Non Infectées</i>		P
		Taille moy. (mm)	N	Taille moy. (mm)	N	
<i>An. gambiae s.s</i>	M	3,35±0,013	285	3,31±0,012	366	0,052
	S	3,26± 0,013	293	3,33±0,011	316	0,0001
<i>An. arabiensis</i>		3,39 ±0,014	200	3,32±0,012	286	0,0001

L'analyse de ce tableau montre que la taille moyenne des imagos issus des formes moléculaires M infectées (3,35±0,013 mm) était plus grande que celle des non infectées (3,31±0,012 mm), (P=0,052). La même tendance est observée chez *An.arabiensis* : femelles infectées (3,39± 0,014) mm et non infectées (3,32± 0,012 mm ), (P=0,001).

Par contre les imagos issues des formes moléculaires S infectées (3,26± 0,013 mm) étaient moins grand que ceux issus des formes S non infectées (3,33± 0,011 mm ), (P=0,001).

### 5.3. Corrélation entre le nombre d'œufs pondus et la taille des femelles sauvages.

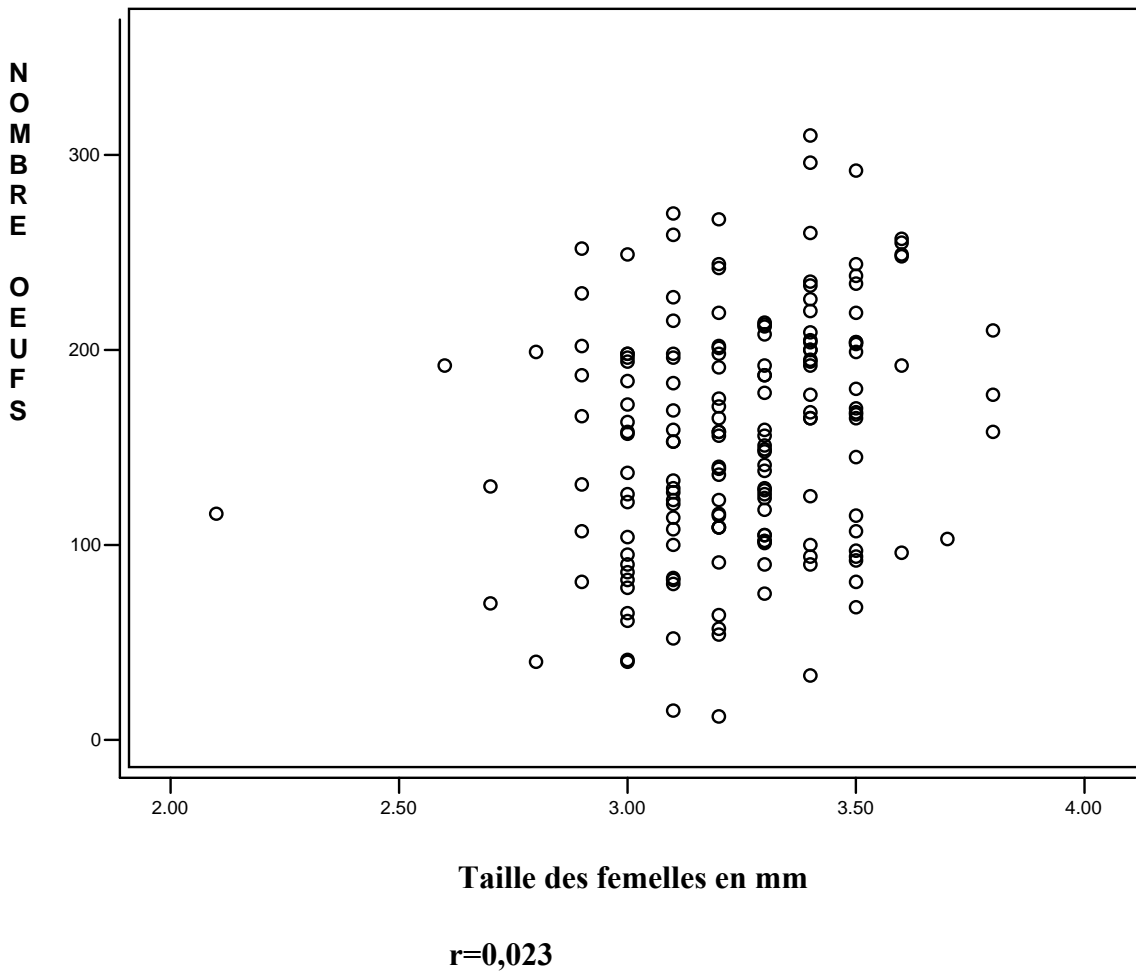
5.3.1. Pour l'ensemble des femelles (*An.arabiensis*, formes moléculaires M, S) infectées et non infectées par *P. falciparum*.



**Figure 14:** Corrélation entre la taille et le nombre d'œufs pondus par les femelles sauvages de la population d'étude.

L'analyse de cette figure montre que la plupart des femelles ayant pondu avaient une taille comprise entre 3mm et 3,5 mm. Elle montre une association positive entre la taille des femelles et le nombre d'œufs pondus, ( $r=0,142$ ).

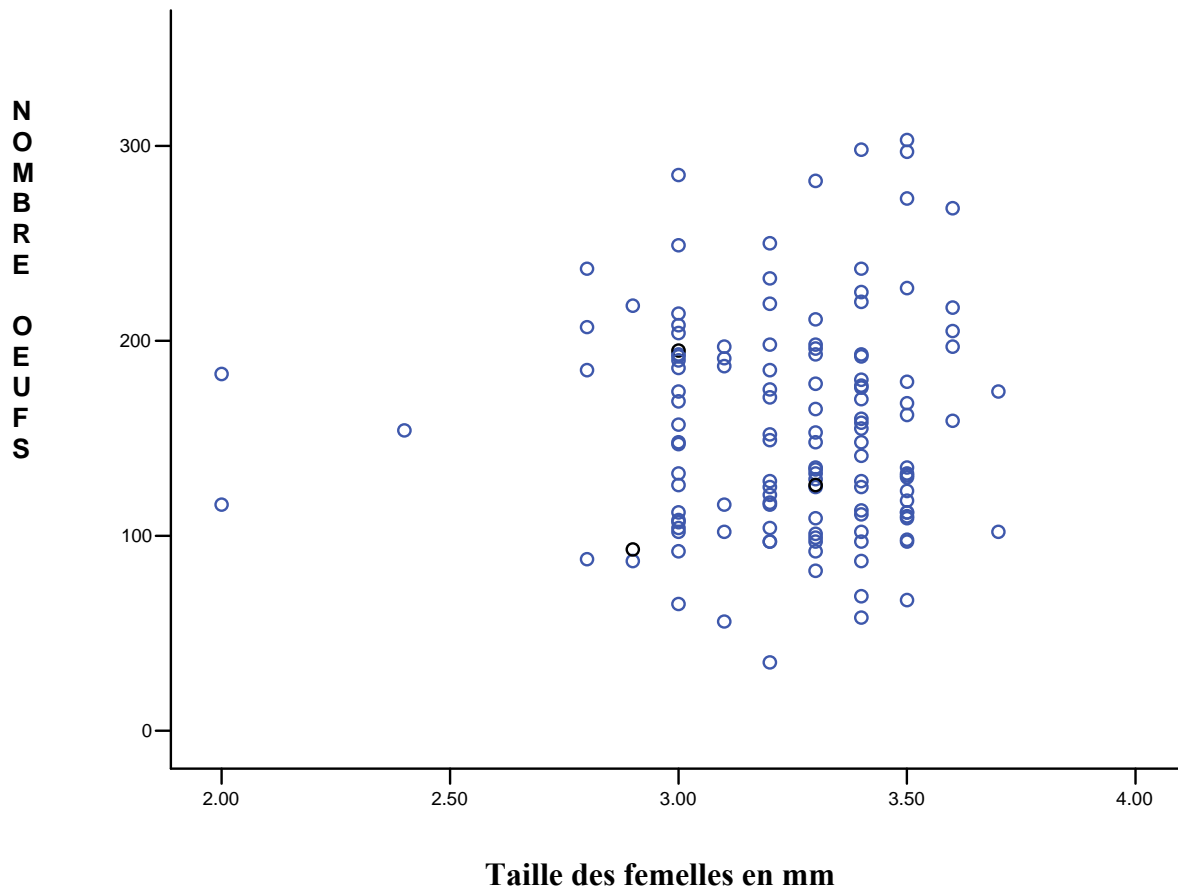
### 5.3.2. Corrélation à l'intérieur des groupes infectés



**Figure 15:** Corrélation entre le nombre d'œufs pondus et la taille des femelles sauvages d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.* infectées.

Cette figure montre qu'il ya également une association positive entre la taille des femelles infectées et le nombre d'œufs pondus.

### 5.3.3. Corrélation à l'intérieur des groupes non infectés



**Figure 16:** Corrélation entre le nombre d'œufs pondus et la taille des femelles d'*An.arabiensis* et des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s* non infectées par *Plasmodium falciparum*.

L'analyse de cette figure montre qu'il y a une association positive entre la taille et le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires M et S non infectées par *Plasmodium falciparum* ( $r=0,239$ )



# COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

## 6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

L'étude des moustiques vecteurs de la transmission du paludisme est un préalable indispensable non seulement pour comprendre l'épidémiologie de la maladie mais aussi pour mettre en place une méthode de lutte efficace et ciblée contre ses vecteurs (Fontenille et al., 2003). La présente était une étude expérimentale menée en conditions de laboratoire (Insectarium), réalisée pendant deux saisons de transmission : d'août à décembre 2006 ; puis d'août à décembre 2007, à partir d'échantillons d'anophèles capturés à Donéguébougou. Donéguébougou représente un site stratégique par sa proximité et la présence de différents gîtes, facteurs de transmission palustre.

Cette étude avait pour but de mesurer l'impact de l'infection à *Plasmodium falciparum* sur le taux d'éclosion des œufs et le développement larvaire chez *An. arabiensis* et les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.*

### 6.1. Etude des populations vectrices

#### 6.1.1. Fréquences des espèces vectrices et statut d'infection

La faune anophélienne vectrice du paludisme à Donéguébougou était composée d'*An. gambiae s.l* et *An. funestus*, déjà décrite par Bagayogo B. (2000). Cette diversité d'espèce peut s'expliquer par la combinaison des différents facteurs écologiques et climatiques qui ont façonné des biotopes offrant des gîtes spécifiques au développement des larves de chaque espèce : cours d'eau permanent, flaques d'eau. La fréquence d'*An. gambiae s.l* augmentait avec les premières pluies (juin-août) et diminuait progressivement en fin de saison pluvieuse (octobre-novembre). Ces variations de fréquence pour *An. gambiae s.l* seraient essentiellement liées à une diversité des gîtes larvaires ; à un développement rapide d'une part et à la disparition progressive des larves d'autre part, due au tarissement des gîtes semi-permanents (Touré 1979).

Les gîtes préférentiels d'*An. gambiae* s.s. sont les points d'eaux temporaires, tels que les flaques. Le nombre de ces gîtes augmente significativement, lorsque les cours d'eaux commencent à s'assécher par endroit, pour faire place à des petites collections d'eau. De même, en début de saison des pluies, les cours d'eaux qui s'étaient asséchés commencent à recueillir de l'eau. A cette période, l'eau n'étant pas suffisante pour s'écouler, il apparaît ainsi de nombreuses flaques qui constituent de très bons gîtes pour *An. gambiae* s.l. L'utilisation des techniques moléculaires développées récemment (Scott et al., 1993 et Favia et al., 2001) nous ont permis d'identifier précisément deux (2) des trois vecteurs les plus importants en Afrique tropicale. Il s'agit d'*An. gambiae* s.s. reconnu comme le vecteur majeur du paludisme présent en zone de forêt et de savane humide (Coz, 1973) et *An. arabiensis*. Cela a été déjà observé dans les études de Bagayogo en 2000 à Donéguébougou au Mali.

Au cours de cette étude sur trois cent une (301) femelles sauvages (infectées et non infectées), *An. gambiae* s.s. représentait 72% (soit 37% de forme moléculaire M et 35% de forme moléculaire S) tandis qu'*An. arabiensis* représentait 28%. Cette variation de distribution des deux espèces s'expliquerait par des différences d'adaptation aux conditions du milieu (température ; humidité). Ces observations concordent avec celles de Touré 1983 ; 1984 ; Coulibaly 1985 ; Traoré 1989. Selon ces auteurs, *An. gambiae* s.s. s'observe essentiellement dans les conditions d'humidité relativement élevée tandis qu'*An. arabiensis* s'observe dans les conditions moins humides, voire arides.

Concernant l'infectivité, il a été observé sur trois cent une (301) femelles sauvages : 75% étaient constituées d'*An. gambiae* s.s. (39% de forme moléculaire M et 36% de forme moléculaire S) et 25% d'*An. arabiensis*.



La différence du degré d'infection de ces (2) deux espèces pourrait s'expliquer par leur mécanisme d'adaptation aux conditions environnementales d'une part et d'autre part à la susceptibilité aux différents génotypes de *Plasmodium falciparum*.

### **6.1.2. Fécondité et taux d'éclosion des femelles sauvages.**

Le site de capture a été choisi en fonction du comportement trophique des moustiques qui sont aussi bien endophiles (Touré Yéya. 1979) qu'anthropophile à plus de 90% (Yaro A.S. 1998, Dao A. 2005). Ainsi les femelles comparées n'étaient différentes que par l'effet d'infection et de leur forme moléculaire.

La réduction du nombre d'œufs pondus sous l'effet de l'infection chez les anophèles est surtout induite par la présence d'oocystes en grand nombre au moment des cycles gonotrophiques qui coïncideront avec cette période. Dès que les oocystes évoluent en sporozoïtes, l'impact de l'infection peut être négligeable sur la fécondité. Les résultats de ce travail montre qu'il n'y avait pas de différence significative entre le nombre moyen d'œufs pondus au niveau de chaque groupe de femelles infectées et non infectées (tableau 5 ;  $P=0,78$  ;  $P=0,13$  ;  $ddl=2$ ). Il n'y avait également pas de différence significative entre le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles M, S et *An. arabiensis* infectées et non infectées ( $P=0,26$  ;  $P=0,48$  ;  $ddl=1$ ). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le parasite ait été déjà au niveau des glandes salivaires (sporozoïtes) au moment des expériences. Il est à rappeler que cette étude a porté sur les moustiques identifiés infectés au niveau des glandes salivaires (CSP révélé positif). Ce qui constitue une limite méthodologique. Puisque les femelles concernées étaient collectées sur le terrain, il ya de fortes chances que les parasites soient au niveau de leurs glandes salivaires plutôt qu'au niveau de leurs estomacs. Ce résultat va dans le même sens que ceux obtenus par Hogg et Hurd, 1995, 1996 en Tanzanie sur *An. stephensi* et *An. gambiae*.

Le nombre d'œufs pondus par les femelles infectées et non infectées augmentait avec la taille de celles-ci (*Fig : 14, 15, 16*). Même si la qualité du repas de sang affecte le nombre d'œufs (Briegel, 1990), la taille de la femelle reste aussi un facteur déterminant (*Fig : 14, 15, 16*). Okanda *et al.*, (2002) ainsi que Yaro *et al.*, (2007) ont eu un résultat similaire car ils ont trouvé une corrélation positive entre le nombre d'œufs développés et la taille de la femelle. Ce qui implique que les femelles de grandes tailles contribuent le plus dans la prolifération des moustiques par la ponte d'un nombre élevé d'œufs.

Les taux d'éclosion variant de 49% à 68% (tableau VI) entre les femelles infectées et non infectées étaient différents non seulement au sein de chaque espèce et formes moléculaires (M, S) dans ces deux groupes, mais aussi entre les différents espèces et formes de chacun de ces groupes de comparaison. Ceci amène à penser que d'autres facteurs outre que l'infection pourraient avoir un effet sur les taux d'éclosion.

L'éclosion des œufs dépend principalement de la température, des conditions physico-chimiques de l'eau, de la qualité intrinsèque de l'œuf. Les œufs utilisent leurs propres réserves pour éclore et entretenir la future larve de premier stade pendant les premières heures de sa vie aquatique. Etant donné que l'ensemble des œufs de cette expérience était conditionné dans le même type d'eau avec les mêmes conditions de température et hygrométrie, l'élévation du taux d'éclosion des œufs pondus par les femelles infectées pourrait être due éventuellement à un investissement plus élevé de celles-ci pour leurs œufs par rapport aux femelles non infectées. Une telle spécificité à des implications cruciales pour le succès d'une méthode de contrôle du paludisme.

### **6.1.3. Le développement larvaire des imagos issus des femelles sauvages (infectées et non infectées par *P. falciparum*) :**

Le nombre d'œufs pondus et la durée du développement larvaire étaient comparables chez *An. arabiensis* et les formes moléculaires M, S d'*An. gambiae* s.s. aussi bien dans le groupe des infectés que dans celui des non infectés. Ce résultat est différent de celui obtenu par Yaro (2007) qui a trouvé qu'*An. arabiensis* pond plus que la forme moléculaire M qui pond à son tour plus que la forme S. Ce qui pourrait s'expliquer par la faible taille de notre échantillon d'étude.

### **6.1.4. Mesure de la taille des femelles sauvages et des imagos issus de ces femelles (infectées et non infectées) :**

Une différence de taille des imagos F1 a été observée tantôt à la faveur de ceux issus des femelles infectées (pour *An. arabiensis* et la forme moléculaire M), tantôt à la faveur de ceux issus des femelles non infectées (forme moléculaire S). Ce phénomène pourrait être dû à une compétition des larves pour la nourriture. En effet, plus la larve mange, plus elle grossit. Malgré cette instabilité de taille, au regard d'études antérieures (Lyimo et Koella 1991 ; Hogg et Hurd 1996; Koella et Lyimo, 1996 ; Yaro 2006b), les imagos F1 obtenus dans cette étude étaient de grande taille (3,26 à 3,39 mm) quelque soit la forme moléculaire et le statut d'infection de leur maman. La similitude de taille entre les femelles sauvages infectées et non infectées a été également constatée par Hogg et Hurd (1996). Le sexe ratio des F1 était comparable au niveau des trois vecteurs aussi bien pour le groupe des infectés que les non infectés. Ce qui suggère que le statut d'infection n'a pas d'impact sur le sexe ratio des imagos (tableau VIII).

Ainsi une infection avancée à *P. falciparum* (stade sporozoïtes) n'induirait pas chez *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis* un handicap de reproduction. Les œufs pondus et les larves qui en découlent sont aussi viables que ceux d'une femelle

non infectée. Le fait que les densités d'anophèles soient élevées dans les zones hyper endémiques comme Donéguébougou pourrait être une illustration de ce phénomène.

# CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

## 7- CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude il peut être conclu que la réduction du nombre d'œufs pondus sous l'effet de l'infection à *P. falciparum* chez *An. arabiensis* et les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae* s.s. n'est pas certaine lorsque l'infection atteint le stade des sporozoïtes. Même infectés ces trois vecteurs ont une grande similitude de comportement et de reproduction. De façon générale, ce travail prône une approche multidisciplinaire pour une meilleure compréhension des interactions anophèle-*Plasmodium*. Même si ces travaux de recherche abordent le système à différentes échelles sans véritablement intégrer l'ensemble (différents niveaux d'infection), c'est certainement l'objectif vers lequel il faut tendre. En particulier, il reste de nombreux efforts à faire pour réconcilier recherche de laboratoire et celle de terrain. Par exemple, l'une des plus importantes lacunes des études sur les interactions anophèle-*Plasmodium* (y compris dans les travaux de cette investigation) est de négliger la multiplicité des infections. En effet, les individus vivant dans les régions où le paludisme est endémique sont souvent infectés par plusieurs espèces ou plusieurs génotypes différents de *Plasmodium* (Conway *et al.*, 1991; Magesa *et al.*, 2002). Malgré l'importance cruciale des interactions entre parasites partageant le même hôte pour la pathogenèse (Black *et al.*, 1994) et pour l'épidémiologie et l'évolution des maladies infectieuses (Read et Taylor 2001), très peu d'études ont examiné l'influence de ce paramètre lors de la transmission de *Plasmodium* par son vecteur (Taylor *et al.* 1997a, b; Arez *et al.*, 2003). Prendre en compte la possibilité d'infection multiple devrait conduire à une meilleure compréhension non seulement des interactions moustique-*Plasmodium* en conditions naturelles, mais aussi de l'épidémiologie du paludisme (Boëte et Paul 2006). Une approche multi-disciplinaire des interactions vecteur-parasite est particulièrement nécessaire dans le cadre du développement de nouvelles stratégies de contrôle des vecteurs de maladie (Scott 2005). Les résultats de cette

étude associés à ceux d'autres études (Billingsley 2003; Koella 2003), ont montré l'importance de compléter les progrès réalisés pour la lutte contre le paludisme par des approches d'écologies et de biologie des populations vectrices.

Ainsi les perspectives vont dans le sens d'une continuation de cette étude avec un effort particulier pour l'identification des mécanismes d'interaction entre le parasite et le vecteur du paludisme. Aussi l'accroissement de l'échantillon à utiliser.

A l'issue de cette étude et au vu de ces résultats, nous recommandons :

- **Au ministère des enseignements secondaire, supérieur et de la recherche scientifique :**

De financer et d'encourager de telles études qui pourront avoir une contribution de taille dans la planification d'une lutte anti vectorielle ;

- **Aux chercheurs :**

- De mener des études similaires sur le complexe *An. gambiae* en vue d'une meilleure connaissance de la biologie du moustique et de ses interactions avec les parasites ;

-De continuer ces études sur le plan génétique afin d'identifier les gènes impliqués dans le blocage du développement des *Plasmodies* chez *An. gambiae s.l.* ;

- Poursuivre ces études en mettant l'accent sur la dynamique des populations de *P. falciparum* en relation avec celle des populations vectrices dans différentes situations épidémiologiques.

# BIBLIOGRAPHIE



## 8- BIBLIOGRAPHIE

**1-Arez A.P., Pinto J., Palsson K., Snounou G., Jaenson T.G. & do Rosario V.E. (2003)** Transmission of mixed *Plasmodium* species and *Plasmodium falciparum* genotypes. *Am J Trop Med Hyg*, 68, 161-8

**2-Bagayoko B. 2000.** A Study of genetic diversity of *Plasmodium falciparum* in human hosts and vectors mosquitoes in relationship between the malaria transmission patterns in Donéguébougou.

**3-Bates M. (1949).** The natural history of mosquitoes. New York: Macmillan Co.

**4- Briegel H. ( 1990).** Fecundity, metabolism, and body size in *Anopheles* (Diptera: Culicidae), vectors of malaria. *J. Med. Entomol.* **27**: 839-850.

**5- Beier J., Perkins P.V., Wirtz R.A., Whitmore R.E., Mugambi M., and Hockmeyer W.T.(1987).** Field evaluation of an enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for *Plasmodium falciparum* detection in anopheline mosquitoes from Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **36**: 459-468.

**6-Briegel H. (1990).** Fecundity, metabolism, and body size in *Anopheles* (Diptera: Culicidae), vectors of malaria. *J. Med. Entomol.* **27**: 839-850.

**7-Billingsley P. (2003)** Environmental constraints on the physiology of transgenic mosquitoes. In: *Ecological aspects for application of genetically modified mosquitoes* (eds. Takken W. & Scott T.W.), pp.149-161. Frontis, Dordrecht, The Netherlands

**8-Black J., Hommel M., Snounou G. & Pinder M. (1994)** Mixed infections with *Plasmodium falciparum* and *P. malariae* and fever in malaria. *Lancet*, 343, 1095

- 9-Boëte C. & Paul R.E. (2006)** Can mosquitoes help to unravel the community structure of *Plasmodium* species? *Trends Parasitol*, 22, 21-5
- 10- Coluzzi M. ( 1967).** Cytogenetic observations on species A and B of *Anopheles gambiae* species complex. *Parasitology* 9: 73-88.
- 11-Coluzzi M., Sabatini A., Petrarca V., and Di Deco M.A. (1979).** Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 73: 483-497.
- 12-Coluzzi M., Petrarca V., and Di Deco M.A. (1985).** Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in *Anopheles gambiae* *Boll. Zool.* 52: 45-63.
- 13 - Coz J. ( 1973) Contribution à l'étude du complexe *Anopheles gambiae*. Répartition géographique et saisonnière en Afrique de l'Ouest. *Cah ORSTOM, Ser Entomol Med Parasitol*; 11 : 3-31.
- 14-Conway D.J., Greenwood B.M. & McBride J.S. (1991)** the epidemiology of multiple-clone *Plasmodium falciparum* infections in Gambian patients. *Parasitology*, 103, 1-6
- 15- Clements A.N. and Brocock M. R. (1984).** Ovarian development in mosquitoes; stages of growth and arrest, and follicular resorption. *Physiol. Entomol.* 9: 1-8.
- 16-Clements A.N. (1963).** The physiology of Mosquitoes. Oxford: Pergamon Press Ltd.
- 17-Christophers S. R., and Puri I.M. (1929).** Why do anopheles larvae feed at the surface and how? . *Trans. Far-East. Ass. Trop. Med. (7th Congr.)* 2: 736-738.

**18-Christophers S. R. (1960).** *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito. Its life history, bionomics and structure. London: Cambridge University Press.

**19-Dao., A. (2005).** Etude comparative des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme dans différents villages de la préfecture de Kati en zone de savane soudanienne du Mali. Faculté des Sciences et Technique, DEA, Entomologie-Parasitologie

**20- Danis M. et Mouchet J. (1991).** Les vecteurs et la transmission. In : "Paludisme".Edi. Danis. et Mouchet .Ellipse, Paris, 34-58.

**21- Della Torre A., Fanello C., Akogbeto M., Dossou-yovo J., Favia G., Petrarca V., and Coluzzi M. (2001).** Molecular evidence of incipient speciation within *Anopheles gambiae* s.s. in West Africa. Insect Mol. Biol. **10**: 9-18.

**22-D. & Jakobsen P.H. (2002)** Diversity of *Plasmodium falciparum* clones infecting children living in a holoendemic area in north-eastern Tanzania. *Acta Trop*, **84**, 83-92

**23-Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Siden-Kiamos I., and Louis C. (2001).** Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. Insect Mol. Biol. **10**: 19-23.

**24-Fanello C., Santolamazza F., and Torre A. D. (2002).** Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. Medical and Veterinary Entomology **16**: 461-464.

**25- Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Siden-Kiamos I., and Louis C. 2001.** Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. Insect Mol. Biol. **10**: 19-23

- 26-Fillinger U, Knols BG & Becker N (2003)** Efficacy and efficiency of new *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* and *Bacillus sphaericus* formulations against Afrotropical anophelines in western Kenya. *Tropical Medicine and International Health* 8, 37–47.
- 27- Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene Ph et Coll. (2003)** Systématique et biologie des anophèles vecteurs de *Plasmodium* en Afrique : données récentes. *Med Trop* 63 : 247-53.
- 28- Goma L. K. H. (1966).** The mosquito; Biology of egg. Hutchinson Tropical Monographs Series: 43-47.
- 29-Gillies M.T., and De Meillon B. (1968).** The *Anophelinae* of Africa South of the Sahara., South African Institute for Medical Research. 2nd Editio, No 54.
- 30- Goma L.K.H. (1966).** The Mosquito. Biology of the larva. Hutchinson Tropical Monographs: 62.
- 31-Gillies M.T., and De Meillon B. (1968).** The *Anophelinae* of Africa South of the Sahara, . South African Institute for Medical Research. 2nd Editio, No 54.
- 32- Holstein M. (1949).** Etude sur l'anophélisme en AOF, Soudan Français, Bamako. *Bull. Soc. Path* 42: 374-378.
- 33- Hopwood J.A., Ahmed A.M., Polwart A., Williams G.T., and Hurd H. (2001).** Malaria-induced apoptosis in mosquito ovaries: a mechanism to control vector egg production. *The journal of Experimental Biology* 204: 2773-2780.
- 34- Hovanitz W. (1947).** Physiological factors which influence the infection of *Aedes aegypti* with *Plasmodium gallinaceum*. *American Journal of Hygiene* 45: 67-81

- 35- Holstein M. (1949).** Etude sur l'anophélisme en AOF, Soudan Français, Bamako. Bull. Soc. Path **42**: 374-378.
- 36-Hogg J.C., and Hurd H. (1996).** The effect of natural *Plasmodium falciparum* infection on the fecundity and mortality of *Anopheles gambiae s.l.* in north east Tanzania Parasitology **114**: 325-331.
- 37-Hogg J.C., and Hurd H. (1995).** *Plasmodium yoelii nigeriensis*: the effect of high and low intensity of infection upon the egg production and bloodmeal size of *Anopheles stephensi* during three gonotrophic cycles. Parasitology **111**: 555-562.
- 38- Hunt, R. H. (1973).** A cytological technical for the study of the *Anopheles gambiae* complex Paragitologia **15**: 137-139.
- 39- Ichimori K. (1989).** Correlation of mosquito size, blood meal size and malarial oocyst production. Japanese Journal of Sanit Zoology **2**: 81-5.
- 40- Jahan N., and Hurd H. (1997).** The effect of infection with *Plasmodium yoelii nigeriensis* on the reproductive fitness of the mosquito *Anopheles stephensi*. Ann. of Trop. Med. Parasitol. **91(4)**: 365-369.
- 41- Kitthawee S., Ehman J.D., and Sattabongkot J. (1990).** Evaluation of survival potential and malaria susceptibility among different size classes of laboratory-reared *Anopheles dirus*. American Journal of Tropical Medecine and Hygiene **43**: 328-32
- 42-Kaufmann C., and Briegel H. (2004).** Flight performance of the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles atroparvus*. J. Vector Ecol **29(1)**: 140-53.
- 43-Koella J.C. (2003)** on the evolutionary ecology of mosquito immunity and the use of transgenic mosquitoes for malaria control. In: *Ecological aspects for application of genetically modified mosquitoes* (eds. Takken W. & Scott T.W.), pp. 173-185. Frontis, Dordrecht, The Netherlands

- 44-Kouriba., B. (1993).** Ecologie de la chloroquino-résistance au Mali: intérêt d'un test de détection des souches chloroquino-résistantes de *Plasmodium falciparum* par l'utilisation de l'hydrogène trituré et de verapamil. Thèse de pharmacie ENMP, Bamako, Mali.
- 45-Lyimo E., and Koella J.C. (1991).** Relationship between body size of adults *Anopheles gambiae s.l.* and infection with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Parasitology* **104**: 233-237.
- 46- Lyimo E., and Koella J.C.( 1991).** Relationship between body size of adults *Anopheles gambiae s.l.* and infection with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Parasitology* **104**: 233-237.
- 47-Laird M. (1956).** Studies of Mosquitoes and Freshwater Ecology in the South Pacific. *Bull. Roy. Soc. N.Z.* No: 6. 123-54
- 48-Lyimo E., and Koella J.C.( 1991).** Relationship between body size of adults *Anopheles gambiae s.l.* and infection with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Parasitology* **104**: 233-237.
- 49-Munga S., Minakawa N., Zhou G., Barrack O.O., Githeko A.K., and Yang G. (2005).** Oviposition site preference and egg hatchability of *Anopheles gambiae*: effects of land cover types. *J Med Entomol* **42(6)**: 993-7.
- 50-Magesa S.M., Mdira K.Y., Babiker H.A., Alifrangis M., Farnert A., Simonsen P.E., Bygbjerg I.C., Walliker**
- 51- OMS(2003).** Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs.
- 52-. PNLP- Mali (2004).** Rapport de la collecte des données de base pour le suivi et l'évaluation des interventions de lutte contre le paludisme.
- 53-Rodhain F., and Perez C.( 1985).** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine. Les moustiques, systématique et biologie: Cycle de développement et biologie des différents stades. P 89.

**54-Read A.F. & Taylor L.H. (2001)** the ecology of genetically diverse infections. *Science*, 292, 1099-102

**55- Snow R.W., Guerra C. A., Noor A.M., Myint H., and Hay S. (2005).** The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*. 434: 214-217.

**56-Surtees G. (1959).** Functional and morphological adaptations of larval mouthparts in the sub-family Culicinae (Diptera) with a review of some related studies by Montschadsky. *Proc. R. ent. Soc. Lond. (A)* 34: 7-16.

**57-Simard F. (1999).** Structure des populations et flux de gènes chez *An. arabiensis* et *An. gambiae* vecteurs majeurs du paludisme en Afrique. Etude du polymorphisme des marqueurs microsatellites. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré- Nancy I.Pp :201

**58-Scott J.A., Brogdon W.G., and Collins F.H. 1993.** Identification of single specimens of the *An. gambiae* complex by the polymerase chain reactio. *Am J. Trop. Med. Hyg.* 49(4): 520-9.

**59-Scott T.W. (2005)** Current thoughts about the integration of field and laboratory sciences in genetic control of disease vectors. In: *Strategic Plan to Bridge Laboratory and Field Research in Disease Vector Control* (eds. Knols B.G.J. & Louis C.), pp. 67-76. Frontis, Dordrecht, The Netherlands

**60-Touré Yéya. 1979.** Bio-écologie des anophèles (*DIPTERA-CULICIDEA*) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali; Incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de bancroft (Village de Banambani, arrondissement de Kati). Centre Pédagogique Supérieur de Bamako, thèse de 3e cycle Entomologie: Bamako, Mali.

- 61- Touré Yéya., P. V., and Coluzzi M. (1983).** Répartition géographique et polymorphisme chromosomique des membres du complexe *Anopheles gambiae* au Mali. 2eme conf. Intern. Paludisme et Babésioses. Communication orale. Fondation Mérieux: Annecy, France.
- 62- Touré, Y.T. (1989)** The current stage of study of malaria vectors and vectorial campaign in West Africa. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg*, 83, 39-41.
- 63-Toure Y.T., Petrarca V., Traoré S.F., Coulibaly A., Maiga H.M., Sankaré O., Sow M., Di Deco M.A., and Coluzzi M. (1998).** The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parasitologia* **40**: 477-511.
- 64-Tabachnick W.J. (2003).** Reflexions on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *J. Med. Entomology* **40(5)**: 597-606.
- 65-Taylor L.H., Walliker D. & Read A.F. (1997a)** Mixed-genotype infections of malaria parasites: withinhost dynamics and transmission success of competing clones. *Proc R Soc Lond B*, 264, 927-35
- 66-Yaro A.S. (1998).** Etude de la dynamique des populations vectrices du paludisme en saison des pluies et en saison sèche dans le village de Donéguébougou. *Mémoire de maîtrise en Sciences biologiques*. Ecole Normale Supérieure (ENSup): Bamako, Mali.
- 67- Yaro A.S., Dao A., Adamou A., Crawford J.E., Ribeiro J.M.C., Gwadz R., Traoré S.F., and Lehmann T. (2006a).** The distribution of hatching time in *Anopheles gambiae*. *Malaria Journal* **5**:19: doi: 10.1186/1475-2875-5-19.
- 68- Yaro A.S., Dao A., Adamou A., Crawford J.E., Traoré S.F., Touré A.M., Gwadz R., and Lehmann T.( 2006b).** Reproductive Output of Female *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): Comparison of Molecular Forms. *J. Med. Entomol* **43(5)**: 833-839.



**69-Yaro., A. S. (2007).** Impact de l'infection à *Plasmodium falciparum* sur le taux d'éclosion des œufs et le développement larvaire chez *Anopheles gambiae* s.s au Mali. Master M.I.E. Université d'Abomey Calavi (Cotonou) Promotion Ronald Ross: IRSP Ouidah, Rapport N01.



# ANNEXES

## 9. ANNEXES

### 9.1. Annexe 1 : Recherche des femelles infestantes

La recherche de la protéine circum sporozoïtique a été réalisée à partir des têtes – thorax par ELISA. La protéine est couplée à un anticorps monoclonal de capture fixé sur les parois de la plaque.

Le complexe anticorps-antigène ainsi formé est révélé par un anticorps monoclonal conjugué à une peroxydase.

La recherche de la protéine circum sporozoïtique concerne uniquement le *P. falciparum* dans cette étude. (*P.malariae*, *P. ovale* sont faible fréquence, *P.vivax* est quasiment absent en Afrique au sud du Sahara (Mazier, 1991)

#### 9.1.2. Protocole (ELISA)

#### 9.1.3. Préparation des solutions :

##### -PBS

-PBS 9,7g

- 1 litre d'eau distillée,

##### - Solution de lavage (PBS Tween20) :

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

##### -Solutions des contrôles positifs :

- Dissoudre 25µg de réactif dans 25µl d'eau distillée,

- Tube I: mettre 5µl de la solution de contrôle dans 500µl de BB,

- Tube II: mettre 10µl du tube I dans 1000µl de BB,

- Tube III: mettre 10µl du tube II dans 500µl de BB.

- **Solution d'anticorps monoclonal non marqué**

Pour une plaque : 5ml de PBS et ajouter 20µl d'anticorps.

- **Solution d'anticorps monoclonal marqué**

Pour une plaque : 5ml de BB et ajouter 10µl d'anticorps.

- **Solution révélatrice**

Pour une plaque prendre 5ml de l'ABTS peroxydase substrat et 5ml de peroxydase solution B les mélanger assez bien par l'agitateur.

- **Solution BBNP40:**

Faire le mélange de 5ml de BB plus 25 $\mu$ l de NP40 et avec l'agitateur agiter pendant 15mn.

- **Solution de BB (Blocking Buffer) pour 1 volume de 500ml:**

- Il faut:

2,5g de caséine (0,5%),

50ml de NaOH (0,1N),

450ml de PBS (PH=7),

0,05g de Thimersol,

0,01g de phénol rouge.

- Prendre 100ml de NAOH à 0,1N plus 5g de caséine et faire bouillir l'ensemble tout en agitant le mélange,

- une fois en ébullition arrêter le chauffage et ajouter petit à petit 900ml de PBS tout en agitant doucement,

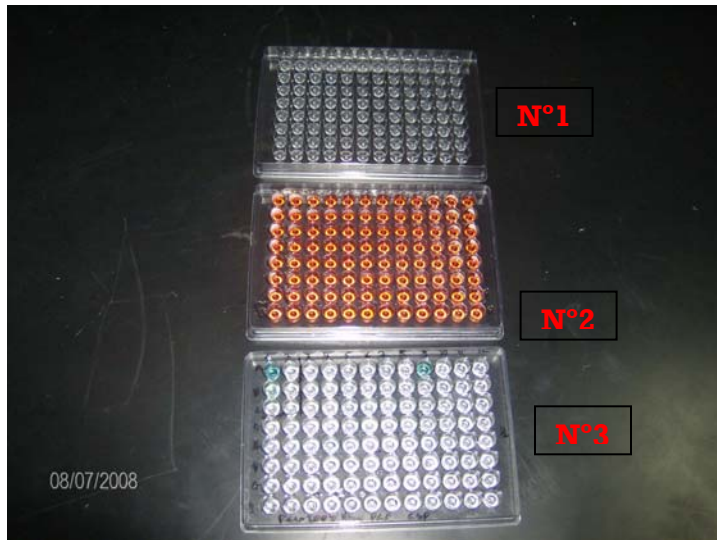
- ajouter ensuite le Thimersol et le phénol rouge et laisser refroidir,

- le PH est ensuite ajusté à 7,4 par addition de goutte de HCl.

-Révéléateur à la peroxydase : pour une plaque, prendre 5ml de la solution de peroxydase A et 5ml de la solution de peroxydase B.

#### **9.1.4. Mode opératoire:**

- Mettre individuellement les têtes- thorax dans les tubes Eppendorf de 1,5ml ;
- Porter les références (date, lieu et méthode de capture, l'espèce capturée) ;
- Ajouter 50 µl de BBNP40 (Nonidetp-40) dans chaque tube ;
- Ecraser mécaniquement à l'aide de petits pilons et ajouter 200µl de BB pour obtenir un volume final de 250µl dans les tubes ;
- Déposer 50µl de l'anticorps monoclonal non marqué dans chaque puits d'une plaque de microtitration et laisser incuber pendant 30 minutes à la température ambiante ;
- Aspirer l'anticorps non marqué, mettre 200 µl de BB (Blocking Buffer) et laisser incuber une heure de temps ;
- Aspirer le BB, puis mettre 50µl de chaque broyat de moustique dans les puits correspondants ;
- Mettre en même temps les contrôles positifs et négatifs dans les puits correspondants et laisser incuber pendant deux heures,
- Aspirer les broyats de moustiques et laver les plaques deux fois avec du PBS-TWEEN (solution de lavage);
- Déposer 50µl d'anticorps monoclonal marqué à la peroxydase dans chaque puits et laisser incuber pendant une heure;
- Aspirer l'anticorps monoclonal marqué et laver trois fois les plaques avec du PBS-TWEEN;
- Ajouter 100µl de substrat révélateur (substrat ABTS) par puits;
- Faire la lecture visuellement à partir de la coloration après 30 à 60 minutes: les puits de la plaque colorés en vert contiennent les moustiques positifs



➤ **De haut vers le bas :**  
 Plaque N°1 = plaque non sensibilisée ;  
 Plaque N°2 = plaque sensibilisée (contenant 200ul de BB dans chaque puits)  
 Plaque N°3 = les 2 premiers puits sont les contrôles positifs et le 9<sup>eme</sup> puits de la

1<sup>ere</sup> rangée contient un moustique infecté (coloration verte).

**Figure 1 : Montrant les différentes plaques pour les tests d'ELISA**

## 9.2. Annexe 2 : *La Polymerase Chain Reaction (PCR)*

### *Ou Réaction de polymérisation en chaîne*

La PCR a été mise au point en 1985 par *Karry Mullis*. Cette technique a permis de donner un coup de pouce au diagnostic biomédical.

Le principe consiste à amplifier en quelques heures, un brin d'ADN en plusieurs copies identiques. Elle utilise la propriété semi-conservative de l'ADN pour synthétiser le brin complémentaire à partir des petites molécules simples ou amorces. Les bases se séparent ou s'apparient deux à deux d'un brin à l'autre (A avec T, G avec C), sous l'action d'agents chimiques ou de la chaleur (dénaturation). Pour se répliquer, les deux brins se séparent et servent de matrice à la synthèse d'un nouveau brin. Les amorces spécifiques utilisés vont se fixer sur les régions homologues correspondantes du génome pour les amplifier (étape d'hybridation et d'extension). Ces différentes réactions sont effectuées à l'aide d'une enzyme polymérase thermorésistante extraite de la bactérie *Thermus aquaticus* (*Taq polymérase*). Le processus d'amplification (PCR) se fait suivant

trois étapes : la dénaturation de l'ADN double brins, l'hybridation des amorces et l'extension des brins complémentaires synthétisés. La séquence cible doit être connue ou au moins celles des deux régions contiguës. Deux nucléotides complémentaires de ces régions encadrant la cible sont synthétisés. Ces oligonucléotides serviront d'amorces pour la synthèse de la séquence cible à la suite d'un cycle de dénaturation et de reconstitution qui conduit à la réplication de la région encadrée par les amorces et à l'amplification exponentielle de la séquence cible.

Il est également possible d'utiliser l'ARN comme matrice. Dans ce cas, il faudrait au préalable effectuer une transcription reverse de l'ARN en ADN Cette variante de la PCR est appelée « Reverse Transcriptase–Polymerase Chain Reaction » (RT-PCR).

### **9.2.1. Technique d'Identification des membres du complexe *An. gambiae* par la technique de la PCR (*An. Arabiensis* et *An. gambiae s.s.* (Scott et al, 1993)**

Les abdomens des moustiques (*An. gambiae s.l.*) gravides issus des captures par aspirateur à bouche ont été traités à la PCR en vue de déterminer l'espèce A (*An. gambiae s.s.*) et l'espèce B (*An. arabiensis*). L'avantage de cette technique réside dans le fait, qu'elle permet l'identification d'espèce quel que soit son sexe, son état de réplétion et son stade de développement (larves ou adultes).

La technique consiste à extraire, amplifier, et révéler les bandes d'ADN des moustiques. La révélation se fait à partir de l'électrophorèse du produit de l'amplification.

### **9.2.2. Extraction de l'ADN du moustique:**

#### **a) Matériels nécessaires à l'extraction de l'ADN :**

- Tubes de 1, 5 ml sur les quels on portera les références des moustiques.
- Pipettes Gilson P1000, P200, P100, P20, uniquement destinées à l'extraction d'ADN.
- Pilon(ou écraseur de moustiques)
- Bain-marie
- Centrifugeuse
- Appareil à vortex.
- Agitateur

#### **b) Produits nécessaires à l'extraction de l'ADN**

- Acétate de potassium
- Tampon d'extraction comprenant :
- Ethanol à 70%, à 100%
- Tris-EDTA
- Glace-pilée
- Eau distillée

#### **C) Méthode d'extraction d'ADN du moustique :**

Elle a été faite exclusivement sur l'abdomen des moustiques capturés dont la portion tête-thorax a été utilisée pour l'ELISA.

- les tubes Eppendorf de 1,5 ml sont numérotés conformément à l'étiquette accompagnant chaque moustique;
- mettre 50 µl de "grinding buffer"(tampon d'extraction) dans chaque tube contenant le moustique; triturer avec le pilon jusqu'à l'écrasement complet du moustique;
- incuber au bain-marie à 65°C pendant 30mn;



- ajouter 7µl d'acétate de potassium à 8 moles pendant que les tubes sont encore chauds; bien mélanger l'ensemble en tapotant sur le tube;
- faire refroidir sur la glace pendant 30 mn;
- centrifuger à 14000 tours/mn pendant 15 mn et transférer le surnageant dans des tubes Eppendorf contenant 100 µl d'éthanol à 100%; bien mélanger;
- verser le surnageant sur du papier hygiénique;
- ajouter 100 µl d'éthanol à 70%, centrifuger 5 mn;
- verser le surnageant et laisser sécher les tubes contenant l'ADN
- dissoudre l'ADN ainsi extrait et purifier dans 100 µl de Tris-EDTA (Ethylene Dinitro Tetra acetic Acid) ou dans de l'eau distillée et stérile; conserver à -4°c jusqu'à l'amplification.

### **9.2.3. Identification des espèces et formes moléculaires :**

#### **a) Matériels nécessaires**

- Balance électronique
- Feuille d'aluminium
- Plastique d'emballage
- Gants en plastique
- Lunettes protectrices
- Four a micro-onde
- Moule à gel pour électrophorèse
- Eprouvette (tube)
- Pipette pasteur
- Embouts
- Para film
- Amplificateur de gènes
- Générateur de radiation ultra-violette
- Appareil photographique

-Instrument à niveau

### **b) produits nécessaires**

-Agarose (amidon de pomme de terre)

-TBE (Tris, Borate, EDTA) à 0, 5%

-Tampon de PCR comprenant:

-d.nucleotide triphosphate (d.NTP)

-Primer (amorce)

- Taq polymérase (*thermus aquatus*)

-ADN extrait

-Eau distillée(ou déionisée)

-Bromure d'éthidium

-Bleu de bromothymol

-Huile minérale

### **C) préparation du milieu pour PCR**

Les échantillons ont été amplifiés par la PCR en prenant 12 µl du volume réactionnel selon les concentrations des réactifs comme indiqué ci-dessous

**Tableau I : Concentration des réactifs à l'identification des espèces**

Réactifs	Espèces	
	1 reaction	N X reactions
<b>H2O sterile</b>	<b>5.94</b>	<b>5.94</b>
<b>10 X buffer</b>	<b>1.25</b>	<b>1.25</b>
<b>dNTPs</b>	<b>2.00</b>	<b>2.00</b>
<b>Mgcl2</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>
<b>GA</b>	<b>0.25</b>	<b>0.25</b>
<b>AR</b>	<b>0.25</b>	<b>0.25</b>
<b>UN</b>	<b>0.25</b>	<b>0.25</b>
<b>Taq</b>	<b>0.06</b>	<b>0.06</b>
<b>AND</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>
<b>Total</b>	<b>12.00</b>	<b>12.00</b>

**Tableau II : séquences nucléotidiques des amorces utilisées dans l'identification des espèces d'*An. gambiae* S.S.**

- **Amorces utilisées :**

Spécificité	Amorces /Primers	Taille
UN	5' -GTG TGC CCC TTC CTC GAT GT- 3'	-
AR	5'-AAGTGTCCT TCT CCA TCC TA -3'	315pb
GA	5'-CTG GTT TGG TCG GCA CGT TT - 3'	390pb

*D'après Scott et al., 1993.* *Pb=paire de bases*

- **Amplification de l'ADN extrait du moustique**

Elle se passe dans une machine programmable de type PTC<sup>®</sup> 100 ou 200 (Programmable Thermal Controller 100 ou 200), il se produit un ensemble de phénomènes cycliques. Un cycle comprend trois principales étapes:

- i) La dénaturation à 94°C au cours de laquelle les deux brins de la molécule d'ADN se séparent ;

ii) L'appariement à 50°C où les amorces par le jeu de la complémentarité des bases (A-T; C-G) se fixent sur les différents brins séparés.

iii) L'extension à 72°C où sous l'action de la Taq polymérase les désoxynucléotides triphosphates (dNTP) viennent compléter l'action des amorces. Ce processus a lieu selon un programme introduit d'avance comprenant 30 cycles.

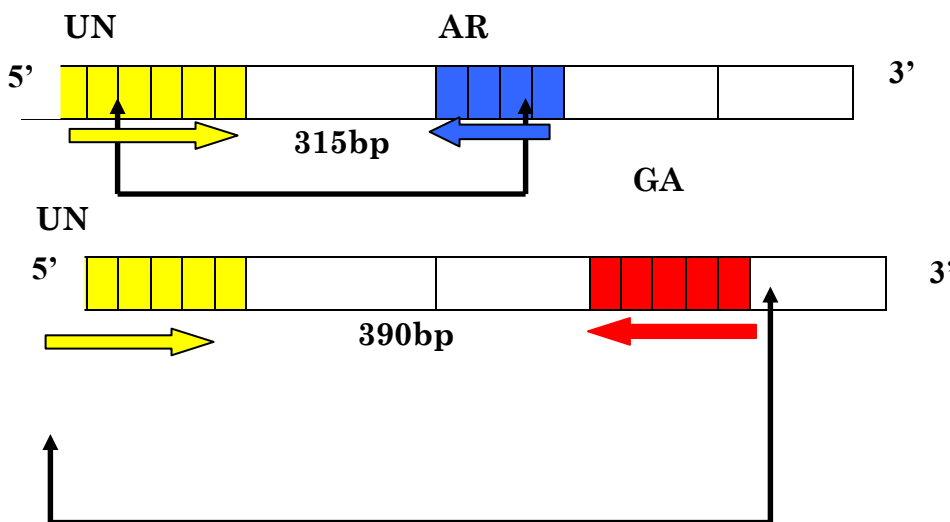
- **Cycle d'amplification:**

Dénaturation de l'ADN matrice → 94°C pendant 30 secondes ;

Appariement des amorces → 50°C pendant 30 secondes ;  
30 fois.

} Ce cycle est répété

Extension → 72°C pendant 30 secondes.



**Figure 2 : place des amorces sur le Gène Intergenic Spacer (IGS) de l'ADN ribosomal (ADN r).**

**Légende :**

→ UN : Amorce universelle pouvant amplifier la partie IGS du complexe (commun à l'espèce A et à l'espèce. B)

→ AR : Amorce spécifique à *Anopheles arabiensis* (315bp)

→ GA : Amorce spécifique à *Anopheles gambiae s.s* (390bp)



**Figure 3 : Photo d'une machine programmable d'amplification de PCR  
(Type PTC<sup>®</sup> 200)**

- **Electrophorèse et interprétation**

Les molécules d'ADN amplifiées migrent sur un gel d'agarose à 2%.

- **Matériels**

-Générateur

-Bacs a électrophorèse

-Plateaux

-Peignes de 14 ou de 24 dents

-Pipettes de Gilson P20

-Four micro-onde

-Gants stérile

-Statif de photographie sous UV et des films

-Table lumineuse UV.

-Casque de protection contre les UV.

- **Préparation du gel d'agarose :**

-Peser la quantité d'agarose dans un erlenmeyer de 500ml (soit 1,5g pour 100ml de TBE 1X).

-Mettre erlenmeyer au four a micro-onde pendant deux minutes (2mn) pour solubiliser l'agarose.

-Refroidir le mélange sous un jet d'eau.

-Ajouter 5ul de Bromure d'Ethidium (10mg/ml) pour obtenir une concentration de 0,5mm/ml de gel d'agarose, puis homogénéiser la solution en secouant l'erlenmeyer. Le bromure d'éthidium sert de révélateur en présence de rayon Ultrat violet (U.V.), il donne une fluorescence orange au gel, qui est intense au niveau des bandes d'ADN.

-Couler le gel dans le moule portant les peignes, en prenant soin d'enlever les bulles formées à l'aide d'un cône.

-Attendre pendant 20 minutes, enlever les peignes après polymérisation de l'agarose.

-Transférer le gel dans le bac à électrophorèse contenant du tampon TBE 1X.  
Le gel doit être entièrement recouvert de tampon.

- **Distribution des amplifiats d'ADN**

-Déposer des gouttes de bleu de charge "loading buffer" (bleu de Bromophenol 0,25%, bleu de Xylène cyanol 0,25%, glycérol 30% et l'eau distillée) sur le parafilm étale sur la pailasse. Le bleu de charge augmente la densité de l'amplifiats, ce qui empêche sa diffusion dans la solution du bac.

La coloration bleue permet de repérer le front de migration sur le gel.

-Mettre 2ul de marqueur de taille (100 paires de bases) mélange au bleu de charge dans les premiers puits de chaque rangée.

-Distribuer 10ul d'amplifiats mélange avec du bleu de charge par puits.

-Refermer le bac, puis régler les paramètres du générateur électrique (150 volts, 150 ampeurs) laisser migrer pendant 1heure.

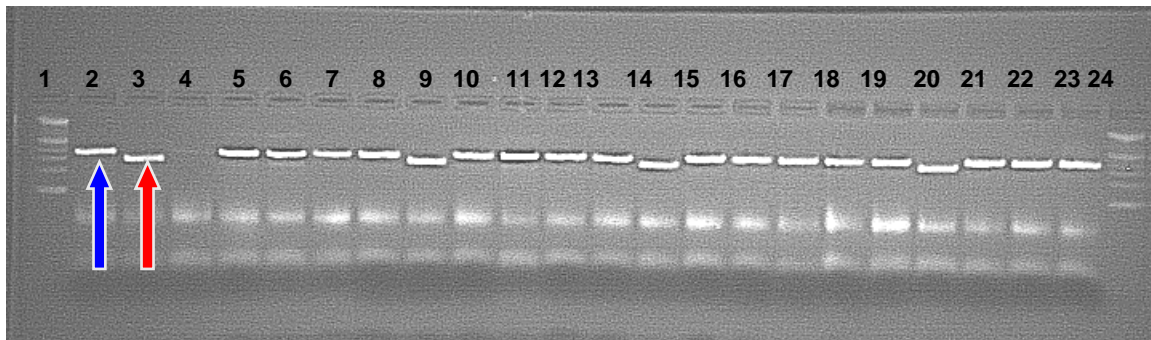
-Observer le gel sous la lumière ultraviolet (U.V.) dans une chambre noire avant de photographier le gel.

L'interprétation se fait à partir de la photo prise.

- **Analyse des résultats :**

Les bandes obtenues sont comparées à celles du marqueur de taille pour déterminer la taille des différents fragments d'ADN. La bande correspondant à *An.arabiensis* possède 315 paires de bases, celle d'*An.gambiae* 390 paires de bases (Scott et al. 1993). Les échantillons dont les bandes migreront à un des niveaux correspondant sont de cette espèce. Les résultats sont ensuite enregistrés.

**NB :** Après la migration, les bandes ont été visualisées à l'aide d'une boîte à UV et ensuite photographiées par une camera "GENE FLASH"



1 et 24 : Marqueur (100Bp), 2 : Contrôle *gambiae* (390Bp),

3: Contrôle *arabiensis* (315Bp), 4 : Contrôle négatif

5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 et 23 : Echantillons identifiés *gambiae*,

9, 14 et 20 : Echantillons identifiés *arabiensis*.

NB : Les bandes en avance sont les *arabiensis* (exemple : flèche en rouge) ;

Les bandes en arrière sont des *gambiae s.s* (exemple : flèche en bleu).

**Figure 4 : Photo d'un gel d'identification d'espèces d'*An gambiae s.l.* et d'*An. arabiensis* par la méthode de Scott et al., (1993).**



- **Identification des formes moléculaires d'*An gambiae s.s* (Favia et al, 2001)**

Les extraits d'ADN sont ceux obtenus depuis la réaction d'identification des espèces d'*An. gambiae s.s.*

➤ **Paramètres d'amplification de l'ADN :**

LES échantillons ont été amplifié par la PCR en prenant 24 µl du volume réactionnel selon les concentrations des réactifs comme indiqué ci-dessous.

**Tableau III : Concentration des différents réactifs nécessaires à l'identification des formes moléculaires de l'espèce *An. gambiae s.s.***

Réactifs	FORMS	
	1 reaction	n(X)reactions
H2O Sterile	15.1	15.1
10X buffer	2.5	2.5
Mgcl2	1.5	1.5
dNTPs	2	2
R5	0.5	0.5
R3	0.5	0.5
Mopti_Int	0.4	0.4
B/S	0.25	0.25
Taq	0.25	0.25
ADN	1	1
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>24</b>

**Tableau IV: Séquences nucléotidiques des amorces utilisées pour l'identification des formes moléculaires d'*An gambiae s.s.***

Amorces	Séquences des amorces	Quantités/Reactions	Taille
R5 (aller)	5'-GCCAATCCGAGCTGATAGCGC-3'	50pmol	
R3 (retour)	3'-CGAATTCTAGGGAGCTCCAG-5'	50pmol	
Mopt	5'-GCCCCTTCCTCGATGGCAT-3'	25pmol	727bp
B/S	5'-ACCAAGATGGTTCGTTGC-3'	40pmol	475bp

*Mopt=forme*

*M* ;

*B/S=forme*

*S.*

*bp=aires de bases*

- **Cycle d'amplification:**

94°C pendant 10 minutes;

Dénaturation: 94°C pendant 30 secondes;

Appariement: 65°C pendant 30 secondes;

Extension : 72°C pendant 30 secondes ; 72°C pendant 7 minutes ;

Conservation à 4°C.

## 9.2.4. Electrophorèse de l'ADN :

### 9.2.4.1. Préparation du Gel et Interprétation des bandes

Un gel d'agarose à 1,5 % a été préparé sur lequel 10µl d'ADN mélangés à 2µl de Dye (100ml d'H<sub>2</sub>O stérile + 46g de sucrose + 0.25g de bleu de bromophenol) ont été logés par puits. La migration a été conduite dans un bac électrophorétique à l'aide d'un générateur (Electrophoresis power supply–EPS301) sous un courant de 150 volts pendant 1 heure.

Après migration, les bandes ont été visualisées sous une lampe UV et photographiées à l'aide d'une camera "GENE FLASH"



**Figure 5 : Photo d'une machine imageur pour gels d'électrophorèse d'ADN (Gene flash).**

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

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

## FICHE SIGNALITIQUE

**Nom:** Guindo

**Prénom:** Amadou

**Titre :** Impact de l'infection à *Plasmodium falciparum* sur le taux d'éclosion des œufs et le développement larvaire chez *An. arabiensis* et *An. gambiae s.s.*

**Année de soutenance :** Année universitaire : 2007-2008

**Ville de soutenance :** Bamako

**Pays d'origine :** Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie.

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

## RESUME

La présente étude s'intéresse plutôt à mesurer chez des femelles sauvages l'impact de la présence des sporozoïtes sur le taux d'éclosion des œufs pondus et le développement larvaire chez *An. arabiensis* et les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.* Après la mise en ponte individuelle, la présence des sporozoïtes a été détectée par ELISA CSP spécifique à *P. falciparum*. Les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.* ainsi qu'*An. arabiensis* ont été identifiées par PCR. Les analyses de comparaisons ont été faites entre *An. arabiensis* et les formes moléculaires M, S infectées et non infectées. Il n'y a pas eu de différence significative entre le nombre moyen d'œufs pondus et le temps de développement des larves chez *An. arabiensis* et les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.*. Les taux d'éclosion étaient significativement différents entre *An. arabiensis* et les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.* infectée et non infectée par *P. falciparum*, non seulement au sein du même vecteur, mais aussi entre les différents vecteurs (**P<0,001**). A l'émergence des imagos, le sexe ratio était à la faveur des femelles. Ces imagos étaient de taille comparable chez la forme M, mais différente chez la forme S et *An. arabiensis*. Il y avait une association positive entre la taille des femelles et le nombre moyen d'œufs pondus (**r=0,142**).

En effet, même infectées, les femelles M, S d'*An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* produisent autant d'œufs et d'imagos que leur homologues non infectées.

**Mots clés:** *Anopheles gambiae*, sporozoïtes, taux d'éclosion, imagos F1, sexe ratio.

**First name:** Amadou

**Surname:** Guindo

**Title:** Impact of *Plasmodium falciparum* infection on the hatching rate and the larval development time among *An. arabiensis* and *An. gambiae s.s.*

**Date:** 2008

**City:** Bamako

**Country:** Mali

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

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

### SUMMARY

In the current study, we measuring the impact of sporozoites on eggs hatching rate and larvae development time in *An. arabiensis* and M, S molecular forms of *An. gambiae s.s.*. Females were allowed to single oviposit and then tested by ELISA for the presence of circum sporozoite protein. M and S molecular forms of *An. gambiae s.s.* and *An.arabiensis* were identified by PCR. Comparison analysis was performed between *An. arabiensis* and M, S molecular forms infected and uninfected by *P. faciparum*. There was no significant difference in both eggs production and the F1s development time between *An. arabiensis* and M and S molecular forms of *An. gambiae s.s.* The eggs hatching rate were significant between *An. arabiensis* and M and S molecular forms of *An. gambiae s.s.* with in group and between group of vectors ( $P < 10^{-6}$ ), regardless they are infected or not. There was no difference in F1s sex ratios between M and S in both infected and uninfected groups. The average size for F1s was statistically comparable between infected M and S. In conclusion we did not detect a major impact of the presence of sporozoites in M and S molecular forms of *An. gambiae s.s.* on their eggs hatching rate and the size of the adults F1s they produced. The sex ratio of F1s in favor of females. The F1s size between infected and uninfected group was similar in the M form but different in

the S and *An. arabiensis*. Positive association was observed between size and eggs production ( $r=0,142$ ).

**Key words:** *Anopheles gambiae*, sporozoites, infection, egg hatch rate, F1's size, sex ratio

## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes Condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail,

Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires

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

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

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

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

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

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'ymanque !

**Je le jure**