

Optimisation des essais de gorgement d'*Anopheles gambiae* en prélude d'une évaluation des vaccins bloquant la transmission du paludisme à Bancoumana, Mali

Par Dr. Youssouf SINABA



National Institutes
of Health

Ce travail a été réalisé grâce au financement de NIH. Le laboratoire de génomique des vecteurs du département d'entomologie du MRTC est responsable du contenu qui ne reflète ni le point de vue du NIH ni celui du gouvernement des USA.

Plan

- I. Introduction
- II. Objectifs
- III. Méthodologie
- IV. Résultats et commentaires
- V. Conclusions
- VI. Recommandations

I. Introduction

I. Introduction

1.1. Définition

Le paludisme est une maladie parasitaire due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*, qui est transmis par la piqûre infectante d'un anophèle femelle à l'être humain (OMS, 1963).

I. Introduction

1.2. Epidémiologie du paludisme Monde (OMS, 2015)

- Personnes exposées au paludisme : 3,2 milliards
- Episode palustre: 214 millions de cas
- Nombre de décès: 438 000 décès
- Région Afrique et Enfants < à 5 ans : 90 % et 70 % décès

Mali (OMS, 2015)

- Cas confirmés: 2 039 853 personnes
- Décès: 2309 personnes

Conséquences: handicap socio-économique sérieux du pays

Introduction

1.3. Moyens de lutte contre le paludisme

Les recommandations (OMS): les tests de diagnostic et le traitement, la chimioprévention, la lutte anti-vectorielle

- Vaccins antipaludiques: approche nouvelle (vaccins: pré-érythrocytaire, érythrocytaire et TBV)
- Vaccins bloquant la transmission du parasite(TBV) regain d'attention.

I. Introduction

1.4. Méthodes d'évaluation des TBV:

Techniques utilisées couramment

- Gorgement direct sur la peau (DSF): simule plus la situation naturelle.
- Gorgement direct par membrane (DMFA): utilise le sang prélevé sur le porteur de gamétocytes (Bousema et al., 2006a).

Etude multicentrique d'infestation a réussi à infecter au moins un moustique:

- dans 62,0 % des expériences;
- dans 66,8% des DSF et DMFA (Bousema *et al.*, 2012).

I. Introduction

1.5. Faiblesses

- Faible taux d'infection;
- Difficulté de confirmer l'activité de blocage de la transmission;
- Variabilités liées aux essais: localisation anatomique, âge des moustiques, temps de mise à jeûne et type de membrane (Bousema et *al.*, 2006b).

Les résultats obtenus permettront d'améliorer l'évaluation des TBV du paludisme et de compléter les études d'infestations précédentes.

II. Objectifs

II. Objectifs

2.1. Objectif général

Optimiser les essais de gorgement pour une meilleure évaluation des candidats vaccins du paludisme

II. Objectifs

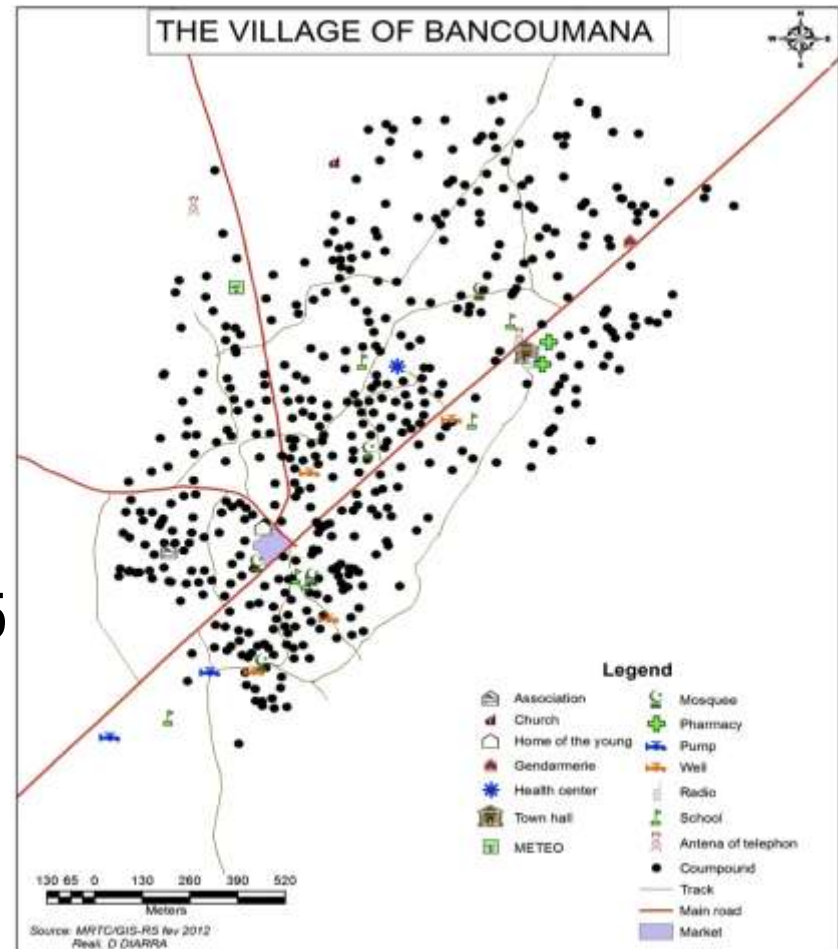
2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la meilleure localisation anatomique de l'être humain pour un meilleur gorgement des moustiques
- Déterminer l'âge idéal et le temps de mise à jeûne pour un meilleur gorgement et une meilleure infection des moustiques
- Comparer le gorgement sur membrane en boudruche et le gorgement sur membrane en parafilm

III. Méthodologie

III. Méthodologie

- Site d'étude: Bancoumana (12°20 N et 8°20W),
- Au Sud-Ouest de Bamako (60 km),
- Zone holo-endémique
- Durée d'étude: jan14-jan 15
- Etude: longitudinale avec passages transversaux



III. Méthodologie

Critère d'inclusion:

- Etre un résident du village Bancoumana,
- Agé de 5 ans ou plus
- GE: porteur gamétocytes de *plasmodium falciparum*

Critère de non inclusion

- Grossesse attestée
- Réaction sévère aux piqûres de moustiques

III. Méthodologie

Optimisation du gorgement direct sur la peau

- Localisation anatomique

- ✓ Avant-bras

- ✓ Mollet

- ✓ Cheville

1 pot de 20 moustiques sur chacune des localisations pendant 15 mn

Mise à jeûne: 8 heures



III. Méthodologie

Optimisation du gorgement direct sur membrane

24 pots de 30 moustiques à travers les membranes dont 12 pots sur boudruche et les 12 pots sur parafilm pendant 30 minutes.

- **Age des moustiques:** 3 jours, 6 jours et 9 jours;
- **Durée de mise à jeûne:** 8 heures, 14 heures et 20 heures;
- **Type de membrane:** parafilm ou boudruche;

Avec le Culot cellulaire du volontaire.

III. Méthodologie

Dispositif de gorgement sur membrane



III. Méthodologie

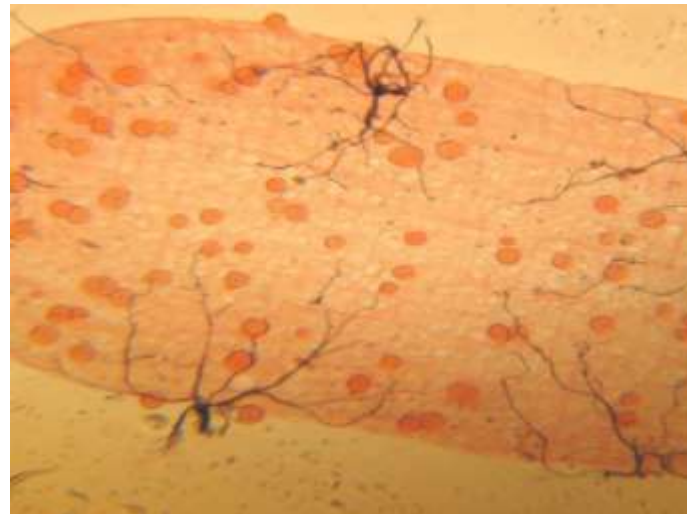
Détermination du taux d'infection (*P. falciparum*) des moustiques

Dissection

extraire l'estomac du moustique sous une loupe binoculaire dans une goutte de mercurochrome une semaine après le gorgement.

Lecture

examiner au microscope les estomacs des moustiques pour la présence d'oocystes.



III. Méthodologie

Saisie et analyse des données

Base de données: saisie sur Excel

Analyses : SPSS 20, EPI06

Tests statistiques avec intervalle de confiance = 95 %
 χ^2 de Pearson et Yates (taux de gorgement, de survie et d'infection)

Régression logistique (Taux d'infection)

Considération éthique: ce protocole a été approuvé par les comités d'éthique NIAID (N°11-I-N143) des Etats-Unis et de la FMOS (N°2011_43_FMPOS) du Mali.

IV. Résultats et commentaires

4.1. Comparaison des taux de gorgement, de survie et d'infection en fonction des localisations anatomiques

Localisation anatomique	Taux de gorgement		Taux de survie		Taux d'infection		Charge oocystique en moyenne	Charge oocystique Min - Max
	%	N	%	N	%	N		
Avant-bras	89,1	340	71,6	299	12,0	214	8,0	1 - 25
Mollet	88,2	670	62,2	590	11,0	367	3,4	1 - 7
cheville	81,3	610	73,0	478	7,0	349	4,8	1 - 9
Comparaisons	X ² =26,9 ddl=2 P<10 ⁻³		X ² =16,4 ddl=2 P<10 ⁻³		P [*] =0,74 P [#] =0,98			

Il n'y avait pas de différence significative entre les taux d'infection des moustiques gorgés sur la cheville et ceux gorgés sur l'avant-bras (P=0,74) et entre la cheville et le mollet (P=0,98). Les taux d'infection suggèrent une élévation au niveau de l'avant-bras. Les comparaisons ont été faites en prenant la cheville comme la valeur de référence par la régression logistique.

4.2. Comparaison des taux de gorgement, de survie et d'infection en fonction de l'âge.

Age	Taux de gorgement % N	Taux de survie % N	Taux d'infection % N	Charge oocystique en moyenne	Charge oocyste Min- Max
Age= 3 jours	95,2 1800	83,9 1709	4,8 1433	1,34	1-29
Age= 6 jours	87,2 3600	72,3 3148	3,3 2258	2,83	1-80
Age= 9 jours	78,1 1800	54,2 1412	1,9 724	2,53	1-22
Comparaisons	$\chi^2=85,8$ $ddl=2$ $P<10^{-3}$	$\chi^2= 388,4$ $ddl=2$ $P<10^{-3}$	$P^*=0,018)$ $P\#<10^{-3}$		

Le taux d'infection des moustiques a varié selon l'âge, les moustiques de 3 jours ont été plus infectés que les moyens (6 jours ; $P=0,018$) et plus âgés (9 jours ; $P<10^{-3}$). Cette comparaison a pris les moustiques de 3 jours comme la valeur de référence.

Boudin et al, 1989 et de **Robert, 1998** : qui a trouvé 4 jours
Lensen (1996)

4.3. Comparaison des taux de gorgement, de survie et d'infection en fonction du temps de mise à jeûne (TMJ)

TMJ	Taux de gorgement % N	Taux de survie % N	Taux d'infection % N	Charge oocystique en moyenne	Charge oocystique Min- Max
TMJ =8H	90,3 1800	72,6 1625	2,9 1162	2,1	1-17
TMJ =14H	88,2 3600	72,3 3182	3,3 2277	2,4	1-29
TMJ =20H	81,2 1800	68,1 1462	3,9 976	4,1	1-80
Comparaisons	$X^2=76,7$ $ddl=2$ $P<10^{-3}$	$X^2=17,1$ $ddl=2$ $P<10^{-3}$	$P^*=0,49$ $P^\#=0,15$		

temps de mise à jeûne n'ont pas montré de différence significative entre (8 heures et 14 heures ; $P=0,49$) et entre (8 heures et 20 heures ; $P=0,15$). Les taux d'infection suggèrent une élévation à 20 heures. Les comparaisons ont été faites en prenant 8 heures comme la valeur de référence par la régression logistique.

4.4. Comparaison des taux de gorgement, de survie et d'infection en fonction de types de membrane

Membrane	Taux de gorgement % N	Taux de survie % N	Taux d'infection % N	Charge oocystique moyenne	Charge oocystique Min - Max
Parafilm	86,9 3600	71,3 3128	3,3 2230	2,8	1-8
Baudruche	87,3 3600	71,4 3141	3,5 2185	3,4	1-80
Comparaisons	$\chi^2=0,2$; $ddl=1$; $P=0,673$	$\chi^2=0,0$; $ddl=1$; $P=0,851$	$P^*=0,86$		

En prenant la baudruche comme la valeur de référence, la relation entre les taux d'infection et le type de membrane n'a eu aucun effet (baudruche 3,5 % et parafilm 3,3% ; $P=0,86$).

V. Conclusions

V. Conclusions

- Il n'y a pas eu de différence entre les localisations anatomiques. Cependant le taux d'infection était plus élevé au niveau de l'avant-bras.
- Moustiques de 3 jours se sont plus infectés que ceux de 6 et 9 jours.
- Il n'y a pas eu de différence entre les temps de mise jeûne des moustiques. Cependant le taux d'infection était plus élevé à 20H de mise à jeûne.
- Il n'a pas eu de différent entre les deux types de membrane.

VI. Recommendations

VI. Recommandations

Aux structures de recherche

D'appliquer et standardiser cet outil dans l'évaluation des vaccins bloquant et d'autres médicaments etc.

Il serait donc souhaitable que les études puissent se poursuivre pour évaluer les vaccins bloquant la transmission du paludisme.

Remerciements

- USTTB/FMOS/MRTC
- A l'équipe LMIV/Entomologie/Mali dirigée par Dr. Mamadou B Coulibaly
- Aux populations de Bancoumana
- Aux bailleurs de fonds
- Aux organisateurs du Pharo
- A Sanofi



A photograph of a cliffside village, likely in the Canary Islands. The scene shows a large, natural rock overhang at the top of a cliff. Below it, several stone buildings are built into the cliff face. In the foreground, more stone buildings with conical roofs are visible, along with some trees and a rocky ground. The overall scene is a mix of natural rock formations and human-made structures.

**MERCI DE VOTRE
AIMABLE ATTENTION**