

EVALUATION DE L'ACTIVITE LIMITANT LA TRANSMISSION HOMME-VECTEUR DU PALUDISME DANS LE PLASMA DES PORTEURS DE GAMETOCYTES AU CAMEROUN *

MULDER B.^{1,2}, TCHUINKAM T.^{1,3}, DECHERING K.^{1,2}, STOFFELS H.^{1,2}, VERHAVE J.-P.², CARNEVALE P.¹, MEUWISSEN JOEP, H. E. TH.³, ROBERT V.¹

RESUME

Une souche d'*Anopheles gambiae* d'élevage a été infectée expérimentalement avec des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* issus de 65 patients du Cameroun. Une comparaison a été faite entre les infections avec le sang contenant le plasma des porteurs de gamétocytes eux même et celles réalisées avec le sang dont le plasma avait été remplacé par celui d'un donneur sans antécédant palustre et donc non immun. Un taux d'infections des moustiques plus faible a été observé dans 50 des 65 échantillons de sang contenant le plasma des porteurs. Le taux moyen global de réduction du pourcentage de moustiques infestés a été de 36,8%, et la transmission a été significativement bloquée dans 3 expérimentations. Ceci indique que dans les populations résidant en zone d'endémie palustre, les facteurs du plasma peuvent réduire la capacité des porteurs de gamétocytes à transmettre le *Plasmodium* aux moustiques.

INTRODUCTION

Les gamétocytes sont des stades sexués érythrocytaires du *Plasmodium* qui peuvent apparaître dans la circulation sanguine au cours d'une infection paludique. La transmission de ce parasite au moustique est conditionnée par l'ingestion de sang contenant cette forme par un moustique vecteur du genre *Anopheles*. Dans le mésentéron du moustique, les macrogamètes sont fécondés par les microgamètes pour former des zygotes qui se développent successivement en formes cornues, ookinètes, oocystes et finalement en sporozoïtes. La transmission peut être inhibée par la réduction du nombre de gamétocytes fertiles ou par les facteurs du repas sanguin qui réagissent avec les antigènes de surface des gamètes pour empêcher la fécondation ou interférer avec le développement du zygote jusqu'au stade oocyste (Carter et al., 1988). Les facteurs probablement impliqués dans le blocage naturel de la transmission sont: les anticorps (Meuwissen et al., 1985; Graves et al., 1988b), les leucocytes macrophages

(Sinden et Smalley, 1976), les lymphocytes T (Harte et al., 1985), les cytokines (Mendis et al., 1990; Naotunne et al., 1991) et d'autres facteurs sériques non spécifiques (Motard et al., 1990). Chez *P. falciparum*, les antimalariques gamétocytocides comme la primaquine et les sporontocides comme le proguanil et la pyriméthamine empêchent également la sporogonie dans l'organisme du moustique (Covell et al., 1955).

Les anticorps monoclonaux qui sont capables de bloquer la transmission ont permis d'identifier plusieurs antigènes cibles des stades sexués de *P. falciparum*. Ces antigènes ont des poids moléculaires de 25, 48/45 et 230 kDa (Rener et al., 1983; Kumar et Karter, 1984; Vermeulen et al., 1985). Le mécanisme du blocage de la transmission par les anticorps dirigés contre l'antigène 230 kDa n'est pas connu, tandis que les mécanismes du blocage de la transmission par les anticorps monoclonaux dirigés contre le doublet 48/45 kDa et contre la protéine 25 kDa ont partiellement été identifiés; les deux bloquent la formation de l'oocyste. Cependant, le premier interfère probablement avec la fécondation des macrogamètes alors qu'il a été suggéré que le second interagit avec un ligand de la membrane de l'ookinète pour sa fixation sur la paroi du mésentéron du moustique, empêchant ainsi la pénétration de l'ookinète (Vermeulen et al., 1985; Meuwissen et Ponnudurai, 1986; Meuwissen, 1989).

1 Département d'Entomologie Médicale, ORSTOM / OCEAC, Yaoundé, CAMEROUN

2 Département de Parasitologie Médicale, Université de Nimègue, LES PAYS-BAS

3 Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, CAMEROUN

*Version anglaise dans Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (1994), 88: 121-125.

Une différence très frappante a été observée entre les mécanismes d'action de ces deux anticorps pour leur capacité à bloquer la transmission en fonction de la parasitémie. Comme on pourrait s'y attendre, l'inhibition par l'anticorps anti-25 kDa est plus efficace en cas de faible densité gamétocytaire; par contre, la capacité de blocage de la transmission par l'anticorps monoclonal anti-48/45 kDa apparaît relativement réduite lorsque la gamétocytemie dans le repas sanguin du moustique est faible (Ponnudurai et al., 1987). L'anticorps monoclonal (inhibiteur de la transmission) dirigé contre la protéine 2400 kDa, récemment décrit comme antigène spécifique des stades sexués interfère avec le développement des parasites avant la fécondation. On suppose qu'il inhibe la formation des gamètes extracellulaires (Feng et al., 1993).

L'immunisation bloquant la transmission avec les antigènes du parasite a été menée avec succès dans les modèles volailles, simiens et rongeurs (Carter et Chen, 1976; Gwadz, 1976; Mendis et Targett, 1979). L'immunisation avec la protéine recombinante 25 kDa produite chez la levure entraîne la production d'anticorps spécifiques bloquant la transmission de *P. falciparum* chez les souris et les singes (Barr et al., 1991). Chez l'homme, l'immunisation bloquant la transmission du *Plasmodium* au moustique n'a pas encore été réalisée. Néanmoins, il est désormais bien établi qu'après le repas infectant du moustique, il y a une néoformation protéique, puis apparition de nouveaux antigènes à la surface des formes sexuées et la protéine 25 kDa devient dominante. Cet antigène demeure le candidat vaccin majeur pour le blocage de la transmission (Kaslow et al., 1991).

Le développement de l'immunité humaine limitant l'infection des moustiques au sein des populations en zone endémique serait d'une grande importance dans la transmission homme-vecteur du paludisme. La compréhension des mécanismes impliqués dans ce processus est donc indispensable pour les études visant à mettre au point un vaccin antigamétocyte et antigamète. Des progrès non négligeables ont été réalisés au laboratoire sur l'immunité bloquant la transmission par le biais de l'immunologie et de la biologie moléculaire; mais des études épidémiologiques spécifiques sur le terrain en zone d'endémie demeurent nécessaires

(Meuwissen, 1989). Quelques études ont déjà été menées sur le terrain pour estimer l'infectivité des porteurs de gamétocytes pour le moustique vecteur: en Nouvelle Guinée (Graves et al., 1988a), en Afrique de l'Ouest (Muirhead-Thomson, 1957; Boudin et al., 1993) et en Afrique de l'Est (Lines et al., 1991; Githeko et al., 1992).

Les anticorps bloquant la transmission de *P. falciparum* ont été mis en évidence dans le sérum d'un missionnaire revenant d'Afrique où il avait passé 28 ans. Ces anticorps purifiés réagissent avec les épitopes bloquants de la protéine 48/45 kDa (Meuwissen et al., 1985). Les sérums des individus de Papouasie (Nouvelle Guinée) ont été examinés pour la recherche des anticorps antigamètes et leurs propriétés bloquantes de la transmission. Dans près d'un tiers des prélèvements, les anticorps contre les antigènes de surface de la membrane des gamètes ont été décelés et la moitié d'entre ces anticorps a produit une réduction significative de l'infectivité des gamétocytes de *P. falciparum* aux moustiques. Cette infectivité était corrélée spécialement au taux de précipitation des anticorps dirigés contre la protéine 230 kDa (Graves et al., 1988b).

Les études de Mendis et al. (1987) au Sri Lanka ont montré que le blocage de la transmission de *P. vivax* était corrélé au titre des anticorps contre les gamètes séchés à l'air et que des facteurs thermolabiles, probablement un complément, étaient impliqués dans le processus. L'immunité bloquant la transmission est accentuée par des réinfections fréquentes (Ranawaka et al., 1988). Zoyza et al. (1988) ont comparé les paramètres observés dans une situation d'épidémie à *P. vivax* à ceux calculés dans un modèle mathématiquement et ont conclu que l'effet d'une immunité limitant la transmission est essentiel pour décrire ce type d'épidémie.

Nous rapportons dans cette étude, l'apparition naturelle de facteurs qui réduisent la transmission dans une population africaine. Des infections expérimentales d'une souche locale d'*Anopheles gambiae* avec du sang de porteurs de gamétocytes de *Plasmodium falciparum* issu du réservoir locale ont été menées à l'aide de cellules d'alimentation artificielle. Pour chaque porteur de gamétocytes, une infection témoin a été simultanément faite avec le sang du même patient dont le plasma a été remplacé par celui

d'un donneur n'ayant jamais été exposé au paludisme. Les infectivités des gamétocytes aux moustiques dans les deux types de repas sanguin ont été comparées.

MATERIEL ET METHODES

1° - La recherche des porteurs de gamétocytes

Chaque matin, des gouttes épaisses étaient faites à partir du sang des patients se présentant au dispensaire de Messa, un quartier central de Yaoundé. Après une coloration au Giemsa à 8% pendant 20 mn les préparations ont été examinées au microscope optique pour la recherche des gamétocytes. Les patients porteurs des formes sexuées du parasite ont été invités à l'OCEAC pour coopérer dans cette étude par un don de sang.

2° - Les infections expérimentales

Une souche locale d'*A. gambiae* s.s., a été infectée avec du sang de porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* à l'aide de cellule d'alimentation artificielle. Pour chaque expérimentation, 2 infections ont été réalisées: l'une avec le sang du porteur de gamétocytes (infection-OWN) et l'autre avec le sang du même porteur dont le plasma était substitué par un plasma du groupe AB en provenance d'un donneur universel sans antécédant palustre (infection-AB). Ce plasma avait été prélevé en Hollande et conservé à -20°C jusqu'à son utilisation à Yaoundé.

Deux tubes héparinés de 2 ml de sang chacun et un tube sec sans anticoagulant ont été prélevés de chaque porteur de gamétocytes. Pour éviter l'activation des gamétocytes, les tubes de sang, le plasma AB et les seringues utilisées pour introduire le sang dans les cellules de gorgement ont été maintenus à 37°C pendant toute la manipulation.

Les tubes héparinés ont été centrifugés pendant 5 mn à 540g. Dans l'un de ces tubes, le plasma a été remplacé par le plasma AB non immun qui avait été auparavant testé à l'Université de Nimègue (Ponnudurai et al., 1989) et n'avait montré ni d'effet inhibiteur, ni d'effet éleveur de l'infectivité. Deux cellules de gorgement ont été alors remplies chacune d'un de ces types de repas sanguin et offert pendant 15 minutes à 2 lots de moustiques de même âge (5 jours après l'émergence). Après le repas sanguin, les moustiques gorgés ont été triés, comptés et maintenus dans les mêmes conditions d'élevage que la

souche de reproduction: 26 à 28°C de température et 70 à 90% d'humidité relative, avec un accès permanent à une solution de sucrose à 10% et sans repas de sang supplémentaire. Le reste de sang hépariné a été dilué au 1/10ème dans du tampon phosphate alcalin (PBS) et stocké à -20°C pour le titrage de la teneur en chloroquine par test ELISA tel que décrit par Witte et al. (1990).

Juste après le prélèvement de sang, une nouvelle goutte épaisse a été faite pour chaque patient à partir du sang sans anticoagulant et colorée au Giemsa à 4% pendant 45 mn. La densité gamétocytaire a été déterminée à partir du rapport leucocytes/parasites en comptant le nombre de parasites pour 1000 globules blancs et en admettant une moyenne de 8000 leucocytes/ μ l de sang.

3° - La recherche des oocystes

Sept jours après l'infection expérimentale, les moustiques survivants ont été disséqués afin d'extraire les estomacs qui ont été colorés au mercurochrome à 2%, avant d'être examinés au microscope optique à l'objectif x40 pour la détection et la numération des oocystes.

4° - Les critères d'inclusion

Seules les expérimentations pour lesquelles au moins 20 moustiques survivants le septième jour après l'infection ont été disséqués dans chacun des groupes OWN et AB, avec au moins un moustique positif en oocyste dans l'un ou l'autre des deux groupes, ont été incluses dans cette étude.

5° - Les analyses statistiques

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel statistique SPSS®. Une analyse monofactorielle des pourcentages de moustiques infestés dans les deux groupes a été menée avec la densité gamétocytaire ou l'âge des porteurs de gamétocytes comme variables indépendantes. Le test de double échantillonnage de Wilcoxon a été utilisé pour les analyses statistiques des différences entre les groupes expérimentaux de moustiques. Les différences entre les moyennes ont été analysées d'après leur distribution soit par le test t, soit par le test U non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les proportions ont été évaluées par le test de Khi2 en tenant compte des corrections de Yates ou de Fisher quand c'était nécessaire.

RESULTATS

1° - Les porteurs de gamétocytes

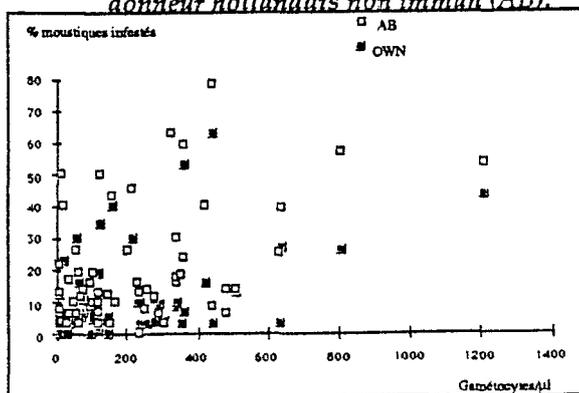
Soixante cinq porteurs de gamétocytes ont été retenus pour cette étude. L'âge moyen a été de 18,9 ans (extrêmes 6 et 36) et la densité gamétocytaire moyenne de 212/ μ l (extrêmes 8 et 1208).

2° - Les infections expérimentales

Les moustiques se sont gorgés et ont survécu équitablement dans les deux groupes. 2173 moustiques dans le groupe OVN et 2159 dans le groupe AB ont été disséqués. La différence entre les moyennes de nombres de moustiques examinés dans ces deux groupes (33,43 et 33,21 respectivement) n'a pas été significative ($t = 0,19$, ddl = 64 et $p = 0,853$). Il y a eu 263 moustiques positifs dans le groupe OVN contre 408 dans le groupe AB. La différence entre les taux de réussite d'infections dans les deux groupes a été statistiquement significative ($\chi^2 = 28,66$ et $p < 10^{-7}$). Le pourcentage moyen global de moustiques infectés a été de 12,10% dans le groupe OVN contre 18,88% en AB, et la densité moyenne d'oocystes par estomac infecté de 1,41 et 2,64 respectivement.

La figure 1 montre une comparaison des relations entre la densité gamétocytaire et le taux de moustiques infectés dans les infections OVN et AB. Il y a une corrélation positive et significative entre la gamétocytemie et le pourcentage d'infections des moustiques dans les infections-OWN ($r = 0,41$ et $p < 0,001$) ainsi que dans les infections-AB ($r = 0,47$ et $p < 0,001$). Nous n'avons par contre trouvé aucune corrélation entre l'âge des porteurs de gamétocytes et le taux de moustiques positifs, que l'on considère les infections-OWN ou les infections-AB.

Figure 1 Corrélation entre la densité gamétocytaire de *P. falciparum* et le taux de moustiques infectés dans 65 infections expérimentales d'*A. gambiae* avec du sang contenant le plasma du porteur (OWN) et avec le sang dont le plasma a été remplacé par celui d'un donneur hollandais non immun (AB).

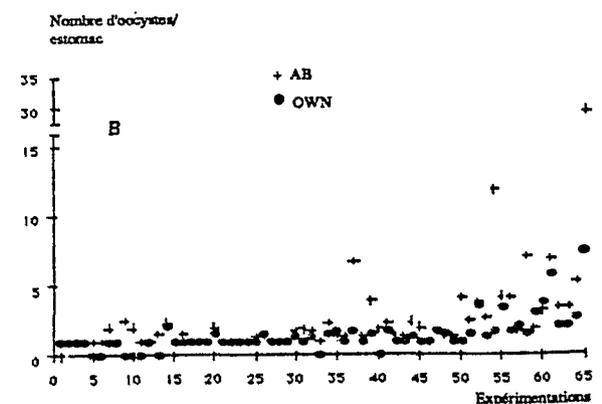
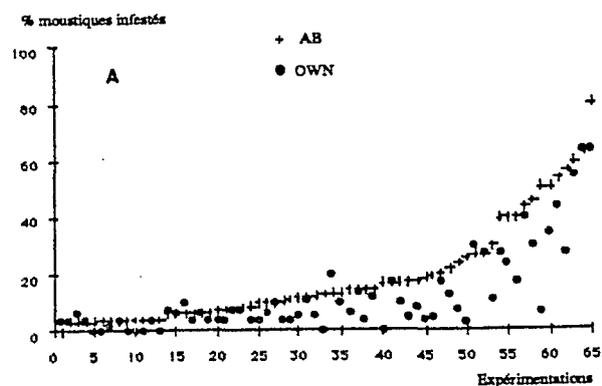


La Figure 2A montre les taux de moustiques infectés en OVN et en AB. Chez 50 sujets (77%), le taux de moustiques infestés a été plus élevé dans le groupe AB qu'en OVN. Dans 8 expérimentations, les repas de sang OVN n'ont donné aucun moustique infesté, tandis qu'à l'exception d'un seul repas toutes les infections avec le sang AB ont donné au moins un moustique positif en oocyste. La Figure 2B donne le nombre moyenne d'oocystes par estomac infecté et par expérimentation. Une différence hautement significative entre les deux groupes a été notée aussi bien en ce qui concerne le taux moyen de moustiques positifs que pour la charge moyenne d'oocystes par estomac positif (test de parité de Wilcoxon, $p < 10^{-5}$ dans les deux cas).

Figure 2:

A: Taux de moustiques infestés après infection expérimentale d'*A. gambiae* avec du sang contenant le plasma des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* (OWN) et avec le sang dont le plasma a été remplacé par celui d'un donneur hollandais sans antécédent palustre (AB), dans 65 expérimentations rangées dans l'ordre croissant des pourcentages d'infections en AB.

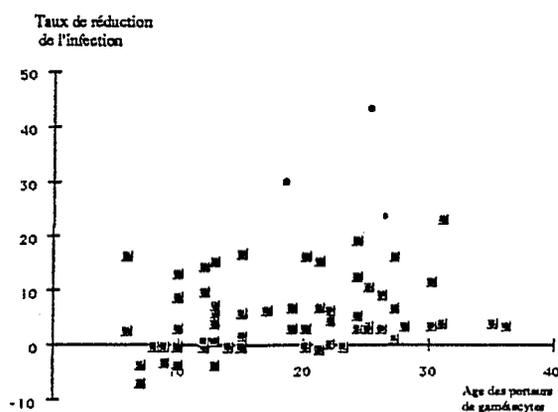
B: Densité moyenne d'oocystes de *P. falciparum* par estomac dans les infections OVN et AB rangées dans le même ordre qu'en A.



La Figure 3 montre la relation entre l'âge des porteurs de gamétocytes et le taux de réduction du

pourcentage des moustiques infestés dans le groupe OWN comparé au groupe AB. Dans 3 expérimentations, la réduction du taux d'infections en OWN par les facteurs plasmatiques, comparé à AB a été significative. La réduction moyenne globale du taux de réussite des infections a été de 36,8%. Il y a eu une forte corrélation positive entre l'âge des porteurs de gamétocytes et le taux de réduction des pourcentages de moustiques infestés. Une différence hautement significative a été notée entre les taux de réduction de pourcentage de moustiques infestés de 2 groupes d'âges. Dans le premier groupe (≤ 15 ans), le taux moyen de réduction a été de 17,6% alors qu'il était de 51,4% dans le second (> 15 ans) (test U de Mann Whitney, $p < 0,005$). Cependant, le taux de réduction des moyennes d'ocystes par estomac infesté dans le groupe OWN comparé au groupe AB n'a pas été corrélé à l'âge des porteurs de gaméocytes. La différence entre les taux de réduction des moyennes d'ocystes dans les 2 groupes d'âge ci-dessus n'a pas été significative (test U de Mann-Whitney, $p > 0,9$). Cela était prévisible étant donné que la valeur médiane du nombre d'ocystes par estomac infesté n'était que de 1 (Fig. 2B).

Figure 3: Relation entre l'âge des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* et le taux de réduction du pourcentage d'*A. gambiae* infestés. La réduction pour chaque expérimentation a été exprimée comme le pourcentage de moustiques infestés par le sang contenant le plasma non immun (AB) diminué du taux d'anophèles infestés par le sang contenant le plasma du porteur (OWN). Le coefficient de corrélation a été de 0,3 ($p < 0,05$). L'astérisque (*) indique les expérimentations individuelles avec une différence significative entre les taux de moustiques infestés en AB et en OWN (test de χ^2 avec correction de Yates, $p < 0,05$).



La densité gamétocytaire, la prévalence des formes asexuées et la prévalence de fièvre (température corporelle $\geq 38^\circ\text{C}$) dans le groupe des porteurs de gamétocytes à fort taux de réduction de la transmis-

Bull. liais. doc. - OCEAC Vol.27 N°2 Juin 1994

sion ($> 50\%$), ne diffèrent pas de celles des autres porteurs (Tableau). Seule la différence en ce qui concerne les moyennes d'âge est significative (test U de Mann-Whitney, $p < 0,005$).

Tableau : Caractéristiques des porteurs de gamétocytes à forts ($> 50\%$) et à faibles ($\leq 50\%$) taux de réduction de la transmission.

	Effectif global	Taux réduc. faible	Taux réduc. élevé	Valeur prob. p*
Nombre d'infections	65	36	29	-
Moyenne d'âge des porteurs de gamétocytes	18,9	15,7	22,6	$< 0,005$
Prévalence de trophozoïtes	45 (69%)	25 (69%)	20 (69%)	NS
Prévalence de fièvre (température $\geq 38^\circ\text{C}$)	11 (17%)	7 (19%)	4 (14%)	NS
Densité gamétocytaire moyenne	212	219	204	NS

* : test U de Mann-Whitney

NS : différence non significative

La teneur en chloroquine a été déterminée par un test ELISA effectué sur le sang de 55 porteurs de gamétocytes parmi les 65 retenus. Dans 44% des cas, la chloroquine a pu être détectée dans le sang (valeurs extrêmes 15 et 600 ng/ml de sang). Il n'y a eu aucune relation entre l'inféctivité du sang OWN et le taux de chloroquine. De même, aucune corrélation entre la teneur en chloroquine et le taux de réduction de l'inféctivité dans le groupe OWN par rapport au groupe AB n'a été observée.

DISCUSSION

Le remplacement du plasma des porteurs de gamétocytes par un plasma non immun s'est traduit par une élévation du pourcentage d'anophèles infestés ainsi qu'une augmentation du nombre moyen d'ocystes par estomac. Cela indique que le plasma des porteurs de gamétocytes naturellement infestés, soit contient des facteurs qui réduisent la transmission, soit est déficient en nutriments qui favorisent le développement des oocystes. La fréquence d'apparition de tels facteurs ou d'une telle déficience chez des individus en zone endémique paraît élevée. Sur 65 infections expérimentales, 50 ont donné un taux de moustiques infestés plus faible avec le plasma du porteur de gamétocytes comparé au plasma témoin. Le contraire a été observé dans 7 expérimentations

seulement, alors que les taux de réussite ont été similaires dans 8 cas.

Le plasma témoin non immun a été prélevé chez un donneur hollandais et a ensuite été jugé sans effet sur l'infection des moustiques avec des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* cultivés (Ponnudurai et al., 1989). Il ne contenait pas de chloroquine alors que le plasma de 44% des porteurs de gamétocytes en contenait. Cependant, la chloroquine n'influence pas l'infectivité des gamétocytes (Wilkinson et al., 1976; Smalley, 1977; Ponnudurai et al., 1989; Chutmongkonkul et al., 1992). Les nombres de moustiques gorgés puis survivants pour la dissection dans les deux groupes ont été comparables indiquant qu'il n'y avait aucune différence dans la préférence alimentaire comme dans la survie des anophèles pour les deux types de repas sanguin (plasma frais du porteur de gamétocyte ou vieux plasma hollandais successivement congelé puis décongelé), bien que les moustiques de la colonie soient maintenus en élevage en permanence avec du sang vieux de moins de 7 jours. Pourtant, au cours des expérimentations avec le sang des patients n'appartenant pas au groupe sanguin AB (cas le plus fréquent), les agglutinines étaient différentes dans les deux types de repas sanguin O₁N et AB. Par contre, les antigènes de groupe ainsi que les facteurs rhésus étaient les mêmes puisque les cellules sanguines demeurent celles du patient. Le groupe sanguin n'a heureusement aucune influence sur l'infectivité des porteurs de gamétocytes (Tchuinkam et al., 1993).

Le premier facteur considéré comme médiateur du blocage de la transmission a été l'ensemble des anticorps circulants dont l'effet bloquant sur la gamogonie et la sporogonie de *P. falciparum* a été démontré par Meuwissen et al. (1985). Cependant, le remplacement du plasma n'a pas levé l'inhibition chez tous les porteurs de gamétocytes. Parmi les 65 infections positives retenues par l'ensemble des critères d'inclusion, 15 ont donné un taux de moustiques infestés en O₁N supérieur ou égal à celui de AB. On ne doit donc pas considérer les facteurs plasmatiques comme étant les seuls responsables des faibles ou mieux de l'échec des infections. La densité gamétocytaire est l'un des facteurs déterminants de l'infectivité d'un porteur de gamétocytes (Boyd, 1949; Tchuinkam et al., 1993). Les facteurs entomologiques tel que la vitesse de digestion du

sang par les moustiques qui varie d'une bestiole à l'autre (Ponnudurai et al., 1989), ajoutés au fait que les moustiques partiellement gorgés n'étaient pas écartés dans nos expérimentations peuvent aussi avoir contribué à l'abaissement du taux de moustiques infectés. L'âge des gamétocytes doit aussi être considéré, puisque la prise de médicaments antimalariques par les patients détruit les stades asexués et les jeunes gamétocytes, empêchant ainsi la formation de nouvelles générations de gamétocytes. Par conséquent, la population de gamétocytes existante vieillie et après quelques jours, montre des signes de dégénérescence tels que la coalescence des pigments cytoplasmiques, qui s'accompagnent d'une réduction de l'activité physiologique intrinsèque (Ponnudurai et al., 1986).

L'accroissement du taux de réduction de l'infectivité en fonction de l'âge signifie que l'activité réductrice de la transmission dépend de l'ensemble de épisodes palustres à *P. falciparum* vécues, ce qui est différent de la situation décrite pour *P. vivax* au Sri Lanka par Ranawaka et al. (1988).

Peiris et al. (1988) ont observé un rehaussement de la transmission homme-vecteur chez *P. vivax* par des faibles concentrations d'anticorps. D'après Gamage-Mendis et al. (1992), cette particularité est étroitement liée à l'infectivité intrinsèque de l'isolat parasitaire. Dans les infections à *P. falciparum*, nous n'avons à aucun moment observé un accroissement significatif de l'infectivité dans le groupe O₁N comparé au groupe AB. De même, Ponnudurai et al. (1987) n'ont jamais observé un tel rehaussement avec les gamétocytes de culture.

Dans le but de préciser le rôle des anticorps, des expérimentations sont en cours pour évaluer leur importance par des bio-essais. Une comparaison est faite entre les infections avec les repas de sang infectants contenant le sérum total et celui contenant les fractions immunoglobulines G isolées de ces mêmes sérums. Dans cette étude, nous pensons déterminer si les facteurs impliqués dans le processus de blocage de la transmission influencent la fécondation ou bien le développement du zygote en oocyste.

En dehors des anticorps, l'immunité à médiation cellulaire pourrait jouer un rôle dans le blocage de la transmission. Les lymphocytes T peuvent réduire considérablement le nombre de gamétocytes ingérés

par les moustiques (Harte et al., 1985). Chez *P. cynomolgi* et *P. vivax*, il a été démontré respectivement par Naotunne et al. (1991) et Mendis et al. (1990) que la perte de l'infectivité des gamétocytes pendant les phases de crises est due à l'apparition à ce moment dans le sang des facteurs tels que les cytokines. Les cytokines ont une activité pyrogénique (Le et Vilcek, 1987) et leur titre est corrélé à la parasitémie asexuée (Kwiatkowski et al., 1990). Le résultat obtenu selon lequel les porteurs de gamétocytes à fort taux de réduction de la transmission (bien que recrutés parmi les patients ayant soufferts d'une crise palustre et présentant des symptômes y afférents) ne diffèrent pas des porteurs à faible taux de réduction de l'infection en terme de température corporelle et de prévalence de trophozoïtes, suggère que les facteurs sériques de crise et/ou les cytokines ne jouent pas un rôle important dans le blocage de la transmission chez *P. falciparum*. Etant donné que les gamétocytes de *P. falciparum* apparaissent dans le sang périphérique 10 jours au moins après la sortie des premiers mérozoïtes du foie (Smalley, 1976), il n'est pas probable que les facteurs apparaissant pendant la phase de crise agüe de l'accès aient une influence épidémiologique significative sur la capacité de transmission des gamétocytes circulants.

REMERCIEMENTS

Cette étude n'aurait jamais été possible n'eût été l'inspiration et la contribution du feu Dr. Thivi Ponnudurai. Les auteurs remercient le personnel du dispensaire de Messa ainsi que les patients pour leur coopération. Cette reconnaissance s'adresse également à Gerald de Haan, Hanneke Stoffels, Isaac Tchikangwa, Roger Beyene, Dorothee Knobbout, Marc Desfontaine, Ernest Mooh, Julienne Essong et Ousmane Traore pour leur assistance technique; Mariel Droomers, Michel Cot et Johan Velema pour leur appui en analyses statistiques; Ton Lensen et Christina Celluzzi pour les critiques apportées au manuscrit. Cette étude réalisée à l'OCEAC a été financée par le programme STD-3 de la CEE, le Ministère Français de la Recherche et de l'Environnement et par l'ORSTOM.

BIBLIOGRAPHIE

- Barr P.J., Green K.M., Gibson H.L., Bathurst I.C., Quakyi I.A., Kaslow D.C. (1991). -Recombinant Pfs25 protein of *Plasmodium falciparum* elicits malaria transmission-blocking immunity. *J. Exp. Med.*, 174: 1203-1208.
- Boudin C., Olivier M., Molez J. F., Chiron J. P., Ambroise-Thomas P. (1993). -High human malarial infectivity to laboratory-bred *Anopheles gambiae* in a village in Burkina Faso. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 48: 700-706.
- Boyd M.F. (1949). -Epidemiology of malaria: factors related to the intermediate host. In: *Malariaology*, volume I. Philadelphia: W.B. Saunders, pp 551-697.
- Carter R., Chen D.H. (1976). -Malaria transmission blocked by immunization with gametes of the malaria parasite. *Nature*, 263: 57-60.
- Carter R., Kumar N., Quakyi I., Good M., Mendis K., Graves P., Miller L. (1988). -Immunity to sexual stages of malaria parasites. *Progress in Allergy*, 41: 193-214.
- Chutmongkonkul M., Maier W.A., Seitz H.M. (1992). -*Plasmodium falciparum*: effect of chloroquine, halofantrine and pyrimethamine on the infectivity of gametocytes for *An. stephensi* mosquitoes. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 86: 103-110.
- Covell G., Coatney G.R., Field J.W., Singh J. (1955). The clinical use of antimalarial drugs. In: *Chemotherapy of malaria*, World Health Organization. Geneva, pp 89-93.
- Feng Z., Hoffmann R.N., Nussenzweig R.S., Tsuji M., Fujioka H., Aikawa M., Lensen T., Ponnudurai T., Pologé L.G. (1993). Pfs2400 can mediate antibody-dependent malaria transmission inhibition and may be the *Plasmodium falciparum* 11.1 gene product. *J. Exp. Med.*, 177: 273-281.
- Gamage-Mendis R., Rajakaruna J., Carter R., Mendis K. (1992). -Transmission blocking immunity to human *Plasmodium vivax* malaria in an endemic population in Kataragama, Sri Lanka. *Parasite Immunology*, 14: 385-396.
- Githeko A.K., Branding-Bennet A.D., Beier M., Atieli F., Owaga M. and Collins F.H. (1992). -The reservoir of *Plasmodium falciparum* malaria in a holoendemic area of western Kenya. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86: 355-358.
- Graves P.M., Burkot T.R., Carter R., Cattani J.A., Lagog M., Parker J., Brabin B.J., Gibson F.D., Bradley D.J., Alpers M.P. (1988a). -Measurement of malarial infectivity of human populations to mosquitoes in the Madang area, Papua, New Guinea. *Parasitology*, 96: 251-263.

- Graves P.M., Carter R., Burkot T.R., Quaki I.A., Kumar N.K. (1988b). -Antibodies to *Plasmodium falciparum* gamete surface antigens in Papua New Guinea sera. *Parasite Immunology*, 10: 208-215.
- Gwadz R.W. (1976). -Malaria: Successful immunization against the sexual stages of *Plasmodium gallinaceum*. *Science*, 193: 1150-1151.
- Harte P.G., Rogers N.C., Targett G.A.T. (1985). -Role of T cells in preventing transmission of rodent malaria. *Immunology*, 56:1-7.
- Kaslow D.C., Isaacs S.N., Quakyi L.A., Gwadz R.W., Moss B., Keister D.B. (1991). -Induction of *Plasmodium falciparum* transmission blocking antibodies by recombinant vaccinia virus. *Science*, 252: 1310-1312.
- Kumar N., Carter R. (1984). -Biosynthesis of the target antigens of antibodies blocking transmission of *Plasmodium falciparum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 13: 333-342.
- Kwiatkowski D., Hill A.V.S., Sambou I., Twumasi P., Cas-tracane J., Manogue K.R., Cerami A., Brewster D.R., Greenwood B.M. (1990). -TNF concentration in fatal cerebral, non-fatal cerebral, and uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet*, 336: 1201-1204.
- Le J., Vilcek J. (1987). -Biology of disease. Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Laboratory Investigation*, 56: 234-248.
- Lines J.D., Wilkes T.J., Lyimo E.O. (1991). -Human malaria infectiousness measured by age-specific sporozoite rates in *Anopheles gambiae* in Tanzania. *Parasitology*, 102: 167-177.
- Mendis K.N., Targett G.A.T. (1979). -Immunization against gametes and asexual erythrocytic stages of a rodent malaria parasite. *Nature*, 277: 389-391
- Mendis K.N., Munesinghe Y.D., Silva De Y.N.Y., Keragalla I., Carter R. (1987). Malaria transmission-blocking immunity induced by natural infections of *Plasmodium vivax* in humans. *Infection and Immunity*, 55: 369-372.
- Mendis K.N., Naotunne T. De S., Karunaweera N. D., Del Giudice G., Grau G.E., Carter R. (1990). -Anti-parasites effects of cytokines in malaria. *Immunology Letters*, 25: 217-220.
- Meuwissen J.H.E.T., Ponnudurai T., Vermeulen A.N., Smits M. (1985). -Studies on the development of a P. falciparum malaria vaccine for the introduction of transmission blocking immunity. In: Proceedings of the Asia and Pacific Conference on malaria, Siddiqui W.A. (Editor). Hawaii: University of Hawaii, pp. 133-142.
- Meuwissen J.H.E.T. & Ponnudurai T. (1986). Some aspects of transmission blocking immunity reviewed. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 81 (suppl. II): 69-75.
- Meuwissen J.H.E.T. (1989). -Current studies related to the development of transmission-blocking malaria vaccines: a review. (1989). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 83 (suppl.): 57-60.
- Motard A., Baccam D., Landau I. (1990). -Temporary loss of *Plasmodium* gametocytes infectivity during schizogony. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 65: 218-220.
- Muirhead-Thomson R.C. (1957). -The malarial infectivity of an African village population to mosquitoes (*Anopheles gambiae*): A random xenodiagnostic survey. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 6: 971-979.
- Naotunne T. De S., Karunaweera N.D., Giudice G. Del, Kularatne M.U., Grau G.E., Carter R., Mendis K.N. (1991). -Cytokines kill malaria parasites during infection crisis: extracellular complementary factors are essential. *J. Exp. Med.*, 173: 523-529.
- Peiris J.S.M., Premawansa S., Ranawaka M.B.R., Udagama P.V., Munasinghe Y.D., Nanayakkara M.V., Gamage C.P., Carter R., David P.H., Mendis K. (1988). -Monoclonal and polyclonal antibodies both block and enhance transmission of human *Plasmodium vivax* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 39: 26-32.
- Ponnudurai T., Lensen A.H.W., Meis J.F.G.M., Meuwissen J.H.E.Th. (1986). -Synchronization of *Plasmodium falciparum* gametocytes using an automated culture system. *Parasitology*, 93: 263-274.
- Ponnudurai T., van Gemert G.J.A., Bensink T., Lensen A.H.W., Meuwissen J.H.E.Th. (1987). -Transmission blockade of *Plasmodium falciparum*: its variability with gametocyte numbers and concentration of antibody. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81: 491-493.
- Ponnudurai T., Lensen A.H.W., van Gemert G.J.A., Bensink M.P.E., Bolmer M., Meuwissen J.H.E.Th. (1989). -Infectivity of cultured *Plasmodium falciparum* gametocytes to mosquitos. *Parasitology*, 98: 165-173.
- Ranawaka M.B., Munesinghe Y.D., Silva de D.M.R., Carter R., Mendis K.N. (1988). -Boosting of transmission-blocking immunity during natural *Plasmodium vivax* infections in humans depends upon frequent reinfection. *Infection and Immunity*, 56: 1820-1824.
- Renner J., Graves P.M., Carter R., Williams J., Burkot T.R. (1983). -Target antigens of transmission blocking immunity on gametes of *Plasmodium falciparum*. *J. Exp. Med.*, 158: 976-981.

- Sinden R.E., Smalley M.E. (1976). -Gametocytes of *Plasmodium falciparum*: phagocytosis by leucocytes in vivo and in vitro. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 70: 344-345.
- Sinden R.E. (1991). -Asexual blood stages of malaria modulate gametocyte infectivity to the mosquito vector - possible implications for control strategies. *Parasitology*, 103: 191-196.
- Smalley M.E. (1977). -*Plasmodium falciparum* gametocytes: the effect of chloroquine on their development. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71: 526-529.
- Tchuinkam T., Mulder L., Dechering K., Stoffels H., Verhave J.P., Carnevale P., Meuwissen, J.H.E.Th., Robert, V. (1993). -Experimental infections of *Anopheles gambiae* with *Plasmodium falciparum* in Cameroon: Infectivity of gametocytes of naturally infected gametocyte carriers. *Tropical Medicine and Parasitology*, 44: 271-276.
- Vermeulen A.N., Ponnudurai T., Beckers P.J.A., Verhave J.P., Smits M., Meuwissen J.H.E.Th. (1985). -Sequential expression of antigens on sexual stages of *Plasmodium falciparum* accessible to transmission-blocking antibodies in the mosquito. *J. Exp. Med.*, 162: 1460-1476.
- Wilkinson R.N., Noeypatimanondh S., Gould D.J. (1976). -Infectivity of *falciparum malaria* patients for anopheline mosquitoes before and after chloroquine treatment. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 70: 306-307.
- Witte A.M.C., Klever H.J.H., Brabin B.J., Eggelte T.A., van der Kaay H.J., Alpers M.P. (1990). -Field evaluation of the use of an ELISA to detect chloroquine and its metabolites in blood, urine and breast-milk. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 84: 521-525.
- Zoysa A.P.K., Herath P.R.J., Abhayawardana T.A., Padmalal U.K.G.K., Mendis K.N. (1988). -Modulation of human malaria by anti-gamete transmission-blocking immunity. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82: 548-553.