

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS  
SECONDAIRE SUPERIEUR ET DE  
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI  
Un peuple - Un But - Une Foi

DIRECTION NATIONALE DE  
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

UNIVERSITE DU MALI  
FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE  
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

THESE N° 26...../  
ANNEE : 1997

**Evaluation de la méthode ELISA (Enzyme Linked  
Immuno-Sorbent Assay ) de détection des Antigènes  
circulants des Schistosomes au Mali .**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le ...../ ...../ 1997 devant la faculté de  
Medecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie du Mali

Par Monsieur Alfred DEMBELE  
Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie  
(Diplome d'Etat )

**JURY**

Président du Jury : Monsieur le Professeur Boubacar Sidiki CISSE

Membres : Docteur Mamadou TRAORE

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur Anatole TOUNKARA

Co-directeur : Docteur Moussa SACKO

FACULTE DE MEDECINE ,DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE  
ANNEE UNIVERSITAIRE 1996-1997

ADMINISTRATION

DOYEN : **ISSA TRAORE** - PROFESSEUR  
1er ASSESSEUR: **OUSMANE DOUMBIA** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE  
2ème ASSESSEUR : **AMADOU DOLO** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE  
SECRETAIRE GENERAL: **BAKARY CISSE** - MAITRE DE CONFERENCES  
ECONOME: **MAMADOU DIANE** CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Ortho-Traumato.Sécourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phthisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L.TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne

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

D.E.R.CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chef D E R de Chirurgie
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousséini Ag MOHAMED	O.R.L.

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mme SY Aissata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif Diakité	Gynéco-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mme DIALLO Fatimata.S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique

Mr Abdoulaye DIALLO  
Mr Gangaly DIALLO  
Mr Sékou SIDIBE  
Mr Abdoulaye K.DIALLO  
Mr Mamadou TRAORE  
Mr Filifing SISSOKO  
Mr Tiéman COULIBALY  
Mme TRAORE J.THOMAS  
Mr Nouhoum ONGOIBA

Anesth.-Réanimation  
Chirurgie Générale  
Ortho.Traumatologie  
Anesthésie-Réanimation  
Gynéco-Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Ortho.Traumatologie  
Ophtalmologie  
Anatomie & Chirurgie Générale

#### 5. ASSISTANTS

Mr Ibrahim ALWATA  
Mr Sadio YENA

Ortho.Traumatologie  
Chirurgie Générale

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

#### 1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO  
Mr Bréhima KOUWARE  
Mr Siné BAYO  
Mr Gaoussou KANOUTE  
Mr Yéya T.TOURE  
Mr Amadou DIALLO  
Mr Moussa HARAMA

Chimie Générale & Minérale  
Bactériologie-Virologie  
Anatomie-Path.Histoembryologie  
Chimie analytique  
Biologie  
Biologie Chef de D.E.R.  
Chimie Organique

#### 2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGÉ

Mr Ogobara DOUMBO  
Mr Anatole TOUNKARA

Parasitologie  
Immunologie

#### 3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Yénimégué A.DEMBELE  
Mr Massa SANOGO  
Mr Bakary M.CISSE  
Mr Abdrahamane S.MAIGA  
Mr Adama DIARRA

Chimie Organique  
Chimie Analytique  
Biochimie  
Parasitologie  
Physiologie

#### 4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE  
Mr Sekou F.M.TRAORE  
Mr Abdoulaye DABO  
Mr N'yenigue Simon KOITA  
Mr Abdrahamane TOUNKARA  
Mr Flabou BOUGOUDOGO  
Mr Amadou TOURE  
Mr Ibrahim I.MAIGA  
Mr Benoît KOUWARE

Biologie  
Entomologie médicale  
Malacologie,Biologie Animale  
Chimie organique  
Biochimie  
Bactériologie  
Histoembryologie  
Bactériologie  
Chimie Analytique

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

### 1. PROFESSEURS

Mr Aly GUINDO	Gastro-Enterologie, Chef de D E R
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Med.Int.
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamamdou M. KEITA	Pédiatrie

### 2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phytsiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Hamar A. TRAORE	Medecine Interne

### 3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Abdel Kader TRAORE	Med.Interne
Mr Moussa Y.MAIGA	Gastroenterologie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastroenterologie
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie

### 3. ASSISTANTS

Mr Adama D.KEITA	Radiologie
------------------	------------

## D E R de SCIENCES PHARMACEUTIQUES

### 1.PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
--------------------------	-------------

### 2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Arouna KEITA	Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharm.Chim. (Chef de D.E.R.)

### 3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie

### 3. MAITRE ASSISTANT

Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Ababacar I.MAIGA	Toxicologie

## D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

### 1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique (chef D.E.R.)
---------------------	------------------------------

### 2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A.MAIGA	Santé Publique
-------------------	----------------

### 3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Yanick JAFFRE	Anthropologie
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique

### 4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE	Santé Publique
Mr Sory I.KABA	Santé Publique

### 5. ASSISTANT

Mr Massambou SACKO	Santé Publique
--------------------	----------------

## CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bakary I.SACKO	Biochimie
Mr Sidiki DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souléymanne GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Nyamanto DIARRA	Mathématiques
Mr Moussa I.DIARRA	Biophysique
Mr Mamadou Bakary DIARRA	Cardiologie
Mme SIDIBE Aissata TRAORE	Endocrinologie
Mr Siaka SIDIBE	Médecine Nucléaire

### PERSONNEL D' ENCADREMENT ( STAGES & TP)

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Baidi KEITA	H.G.T.
Docteur Antoine NIANAO	H.G.T.
Docteur Kassim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I.MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompere KONE	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy DICKO	P.M.I.SOGONINKO
Docteur Mohamed TRAORE	KATI
Docteur Reznikoff	IOTA
Docteur N'DIAYE F. N'DIAYE	IOTA
Docteur Hamidou B.SACKO	HGT
Docteur Hubert BALIQUE	C.T. MSSPA
Docteur Sidi Yéhiya TOURE	HGT
Docteur Youssouf SOW	HGT

### ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr A.E.YAPO	BIOCHIMIE
Pr M.L.SOW	MED.LEGALE
Pr D. BA	BROMATOLOGIE
Pr M.BADIANE	PHARMACIE CHIMIQUE
Pr B.FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Dr G.FARNARIER	PHYSIOLOGIE

# **DEDICACES et REMERCIEMENTS**

## DEDICACES

A mes Parents : Feu Jean-Pierre DEMBELE que son âme repose en paix et Marie Madeleine SOGOBA.

A Bougouzié COULIBALY que son âme repose en paix.

A ma tante Odile OUATTARA. Vous n'avez cessé de nous témoigner votre soucis constant de notre réussite. Nous avons été très touché par la confiance que vous nous avez placé depuis notre jeune âge. Grâce à l'éducation, nous avons pu tisser des relations sociales plus agréables. Recevez à travers ce modeste travail, la récompense des sacrifices consenties et le témoignage de notre attachement total.

A mes oncles maternels et paternels. Je vous dédie ce modeste travail.

A mes frères et soeurs.

Vos seuls soucis ont été notre réussite et notre bonheur, et vous avez consenti tous les sacrifices pour m'aider à y parvenir. Soyez assurés de mon amour total. Mes sincères remerciements vont particulièrement à l'Abbé Basile Dembélé , Claude Dembélé. Vous n'avez cessé de me témoigner votre affection et votre estime. Vous avez été d'un grand secours tout au long de ma vie scolaire en consentant de lourds sacrifices pour faire de moi ce que je suis aujourd'hui. Puisse ce travail couronne la juste récompense de vos efforts.

A mes jeunes frères et soeurs à qui je dis courage et plein succès.

A toute ma famille vous avez contribué de près ou de loin à mon succès, veuillez trouver ici l'expression de mon profond amour et de ma sincère reconnaissance.

A mes belles soeurs, recevez mon attachement total.

A tous les ressortissants de l'arrondissement de Kimparana.

A tous mes cousines et cousins. A tous mes nièces et neveux.

Je vous souhaite un avenir brillant.

A la soeur Maria Thérèse vous avez su intervenir au moment voulu en des moments très dures pour moi, à toute la communauté chrétienne de Kimparana recevez ici l'expression de mon profond amour et de ma sincère reconnaissance.

A mes amis :

Appolinaire DEMBELE, Ousmane MALLE, Sidiki DEMBELE Kary COULIBALY, Mamadou DAOU, Zoumana DOUMBIA.

A mes amies:

Siraboula WANE, Assitan DOUCOURE, Mariam MAIGA , Tako BALLO, Fatoumata DIALLO.

Vous m'avez toujours compris, conseillé, encouragé et entouré d'affection, ce travail est le fruit d'un effort collectif auquel vous avez tous contribué de loin ou de près. Que ce travail soit pour vous tous, l'expression de mon attachement amical.

## **REMERCIEMENTS**

Mes sincères remerciements vont aux familles:

- COULIBALY à Djélibougou et Mangnambougou,
  - SISSOKO à Hamdallaye et N'tomikorobougou,
  - DIARRA, SAMAKE, KEITA à Lafiabougou,
  - HANNE au Badialan I,
  - COULIBALY, SYLLA, DIARRA, SY, TRAORE, à Dar-Salam,
  - MARIKO à Baco Djicoroni,
  - DEMBELE à Kalaban-Coura.
  - Au docteur Moussa SACKO et famille,
  - Au docteur Chiompéré KONE et famille,
  - Au docteur Mahamadou TRAORE et famille,
  - Au docteur Amadou TOURE et Famille,
  - Au docteur Beffon CISSE et Famille,
  - A tous le personnel de l'INRSP et du CNTS.
- Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.

A tous ceux qui n'ont pas été cités dans ce travail, qu'ils en soit tous remerciés.  
 Au Docteur Dick de Clercq médecin biologiste, votre collaboration a été franche et totale dans la réalisation de ce travail. Vos documents ont été très utile. Trouvez ici, l'expression de notre profond respect.

A Véronique VANDEN BUSCHE technicienne de laboratoire qui m'a initié dans cette technique. Vous avez beaucoup contribué à la réussite de ce travail. Recevez ici nos vifs remerciements.

A tous mes amis et collègues de la promotion 1990 - 1997 de la FMPOS. Vous nous avez toujours fait confiance. En souvenir de la solidarité et du courage dont nous avons fait preuve durant ces années d'étude. Nous vous souhaitons courage et bonne chance.

Aux Docteur Bourèma KOURIBA, Docteur Abdoulaye DABO, Cheick TRAORE au DEAP; Docteur Godffroy COULIBALY, Docteur Mamadou TRAORE à l'INRSP. Nous avons apprécié votre franche collaboration au sein de nos séances de travail. Votre modestie et votre assiduité dans le travail bien fait seront pour nous un idéal à suivre. Toute ma reconnaissance.

A tous mes collègues internes, a tous mes cadets, a tous les étudiants de la FMPOS,

A la direction de la FMPOS

A la Bibliothèque

Au Docteur SANGHO cellule informatique de la FMPOS

A Cheick Hamala TRAORE

A tous mes maîtres de la FMPOS

A tous les travailleurs de l'officine de la cathédrale, Babemba, Didrugstore

A tous ceux qui souffrent de faim, de maladie et d'injustice à travers le monde.

**Aux membres du jury:**

**A notre maître et président du jury, Boubacar Sidiki CISSE :**

- **Professeur Agrégé de Toxicologie,**
- **Chargé des cours de Toxicologie et de Phytopharmacie à la FMPOS,**
- **Recteur de l'Université du Mali.**

Cher maître, vous nous faites l'honneur malgré vos multiples occupations de présider ce jury. Nous avons bénéficié de votre enseignement clair et précis de Toxicologie et de Phytopharmacie durant nos années d'études. Nous avons été séduit par l'intérêt que vous accordez à notre formation mais surtout à votre respectueuse reconnaissance. Acceptez nos remerciements les plus sincères et l'expression de notre grande admiration.

**A monsieur le Docteur Mamadou Traoré:**

- **Facilitateur du cours d'Epidemiologie pour cadres superieurs de la santé pour l'Afrique,**
- **Chef du Departement Santé Communautaire,**
- **Responsable du Programme de Recherche pour la Bilharzirose.**

Nous ne pourrions manquer de souligner ici, la facilité et la spontanéité avec lesquelles vous avez accepté de siéger dans ce jury . Nous avons été séduits par votre compétence, votre disponibilité et par votre grande simplicité. Soyez assuré de notre profonde gratitude.

**A mon codirecteur, Monsieur le Docteur Moussa SACKO :**

- **Chef adjoint du service de Parasitologie de l'INRSP,**
- **Coordinateur scientifique des projets STD et INCODC sur les Schistosomiasis**

Vous nous avez accueilli dans votre service avec la gentillesse et amabilité. Vos qualités de chercheur inlassable, votre persévérance au travail bien fait joint à votre courage, à votre générosité et à votre modestie font de vous un chercheur très admiré de tous vos collaborateurs. C'est pour nous un grand privilège d'être à vos côtés et de bénéficier de votre expérience sans qui ce travail serait impossible. Vous nous avez confié ce travail qui, grâce à votre pleine disponibilité de jour comme de nuit a pu être réalisé. Soyez assuré, de notre profonde gratitude et de notre sincère attachement.

**A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur Anatole TOUNKARA:**

- **Maître de conférence Agrégé d'Immunologie**
- **Professeur d'Immunologie à la FMPOS,**
- **Directeur du Centre Nationale de Transfusion Sanguine (CNTS.)**

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de diriger nos travaux. Vous nous avez accueilli avec la gentillesse et amabilité. Vos qualités de chercheur inlassable, votre persévérance au travail bien fait jointes à votre courage, à votre générosité et à votre modestie font de vous un maître très admiré de tous vos collaborateurs. C'est un grand privilège d'être à vos côtés et de bénéficier de votre expérience scientifique. Nous avons beaucoup apprécié la qualité de votre enseignement, clair , simple, et précis.

Par vos conseils et suggestions, vous avez beaucoup contribué à améliorer les qualités techniques de ce travail.

Suivre votre exemple de courage et de total désintéressement dans la recherche scientifique est notre unique ambition.

Soyez assuré cher maître de notre profonde gratitude.

## Sommaire

1- Introduction .....	9
2- Objectifs .....	12
3- Généralités .....	14
3-1- Biologie du Parasite .....	14
3- 2- Manifestations pathologiques .....	16
3-3- Epidémiologie .....	17
3- 4- Le point de la lutte contre les schistosomiasés au Mali .....	18
3-5. - Le Diagnostic Biologique.....	20
4- Méthodologie.....	33
5- Résultats.....	44
6- Commentaires et Discussion.....	59
7- Conclusions et Recommandations.....	67
8- Références .....	72
9- Abréviations.....	82
10- Annexes.....	85

# 1- Introduction

## 1- Introduction

Les schistosomiasés humaines ou Bilharzioses sont des affections parasitaires dues au développement chez l'homme d'un ver trématode appartenant au genre *Schistosoma*. Elles constituent un problème majeur de santé publique dans les pays d'endémie [49, 62]. Elles sont endémiques dans 76 pays tropicaux. Le nombre de personnes exposées au risque de l'infection est estimé 600 millions, parmi lesquels 200 millions seraient infestées [51].

Au Mali, où il existe les formes: génito- urinaires et hépato-intestinales, on estime que 1/4 de la population est infectée par *Schistosoma haematobium* avec une transmission importante dans les régions de Kayes, Koulikoro, Ségou, Mopti et le District de Bamako [33, 62, 63]. Un programme National de Lutte Contre les Schistosomiasés (PNLCS) a été créé en 1982. Ce programme utilise comme stratégies de lutte: la chimiothérapie de masse au praziquantel dans les zones où le taux de prévalence atteint ou dépasse 50 % chez les enfants d'âge scolaire; la chimiothérapie sélective des cas, quand le taux de prévalence est inférieur à 50 %; l'éducation des collectivités pour la promotion de l'hygiène et de l'assainissement.[4, 62, 64].

La mise en oeuvre de ces stratégies exige que soient détectées les personnes infectées de Bilharziose. Ceci permet d'évaluer l'importance de la maladie et l'impact des mesures de lutte. En vue de l'amélioration et de l'évaluation de ces stratégies, d'importantes études ont été effectuées, notamment sur la morbidité, la réinfestation, la transmission, la malacologie, l'efficacité du traitement.[60, 62, 41, 8, 65, 66].

La mise en évidence des oeufs est le moyen standard quantitatif de diagnostic de la Bilharziose. Elle se fait par l'examen microscopique. Les méthodes les plus utilisées au cours des enquêtes de masse sont la filtration urinaire pour *S. haematobium* et le Kato - Katz pour *S. mansoni*.

Cependant le diagnostic parasitologique basé sur la détection des oeufs bien que spécifique, manque de beaucoup de sensibilité, ce qui est due aux fluctuations journalières de l'émission des oeufs [17, 29] et de sa faible capacité de détecter les infections de faibles intensités. Cela conduit souvent à une sous estimation de la prévalence et une surestimation de la guérison [26, 27]. Afin d'augmenter cette sensibilité, des examens répétés sont recommandés ce qui augmente la durée du travail. C'est pourquoi il est nécessaire d'introduire d'autres méthodes alternatives, parmi lesquelles l'immunodiagnostic. Il consiste à détecter des anticorps d'une part, et d'autre part, à détecter des antigènes circulants du ver adulte.

La détection des anticorps n'est pas spécifique. Elle est sensible, mais ne permet pas, de déterminer le stade évolutif de l'infection [17,32]. Par contre la détection des antigènes suscite un grand intérêt [17].

Deux antigènes circulants ont été identifiés, il s'agit de l'Antigène circulant anodique et de l'Antigène circulant cathodique, connus sous le nom de CAA (circulating anodic antigen) et de CCA (circulating cathodic antigen) respectivement, qui sont des produits de régurgitation du ver adulte [19].

Un certain nombre d'études a été effectué quant à l'intérêt de ces antigènes circulants et d'autres sont en cours dans le diagnostic des Schistosomiasés [2, 3, 32, 36, 31, 11, 45, 44, 1, 14, 19, 22, 23, 67, 69, 71, 72].

En effet toutes ces études ont été effectuées dans des grands laboratoires de référence d'Europe loin des pays endémiques, et les résultats de ces études ont une grande importance dans le diagnostic de la Schistosomiase. Si ces méthodes de recherche des antigènes circulants des schistosomes ont montré un intérêt réel dans les pays d'Europe, on ignore dans les pays d'endémie comme le Mali les éléments suivants: leur reproductibilité; leur sensibilité et leur spécificité par rapport aux méthodes de détection des oeufs.

A notre connaissance, aucune de ces méthodes n'avait jusqu'ici été réalisée dans une zone à infection mixte (*S. haematobium* et *S. mansoni*) sur le terrain au Mali. C'est pourquoi il nous a paru intéressant d'entreprendre cette étude. Elle commencera par l'énoncé des objectifs ensuite nous ferons le point de l'actualité sur les généralités; puis nous présenterons nos matériels et méthodes. Nos résultats viendront, ensuite suivra la discussion, les conclusions et recommandations.

## **2 - Objectifs**

## **2 - Objectifs**

### **2-1- Objectif général:**

Evaluer sur le terrain la méthode de détection des antigènes circulant de schistosomes adultes pour le diagnostic biologique.

### **2-2- Objectifs spécifiques:**

- Pratiquer la méthode ELISA(enzyme linked immunosorbent assay),de détection des antigènes circulants des schistosomes sur des prélèvements effectués en zone d'endémie et en zone considérée non endémique.

- Rechercher les oeufs de schistosome par un examen parasitologique des urines après filtration, et des selles après éclaircissement et concentration par la méthode de Kato-katz dans la zone d'endémie et dans la zone considérée non endémique.

- Déterminer la sensibilité et la spécificité de la méthode ELISA de détection des antigènes circulants par rapport aux méthodes de diagnostic parasitologiques considérée comme méthodes de référence.

- Evaluer l'efficacité du traitement au praziquantel par les différentes techniques, afin de choisir la technique la mieux indiquée dans le suivi des traitements de masse et des traitements sélectifs.

## **3- Les Généralités:**

### **3- Les Généralités:**

#### **3-1 Biologie du Parasite:**

##### **a- Définition:**

La Schistosomiase humaine ou Bilharziose est une affection parasitaire liée à l'eau, causée par des trématodes du genre *schistosoma*.

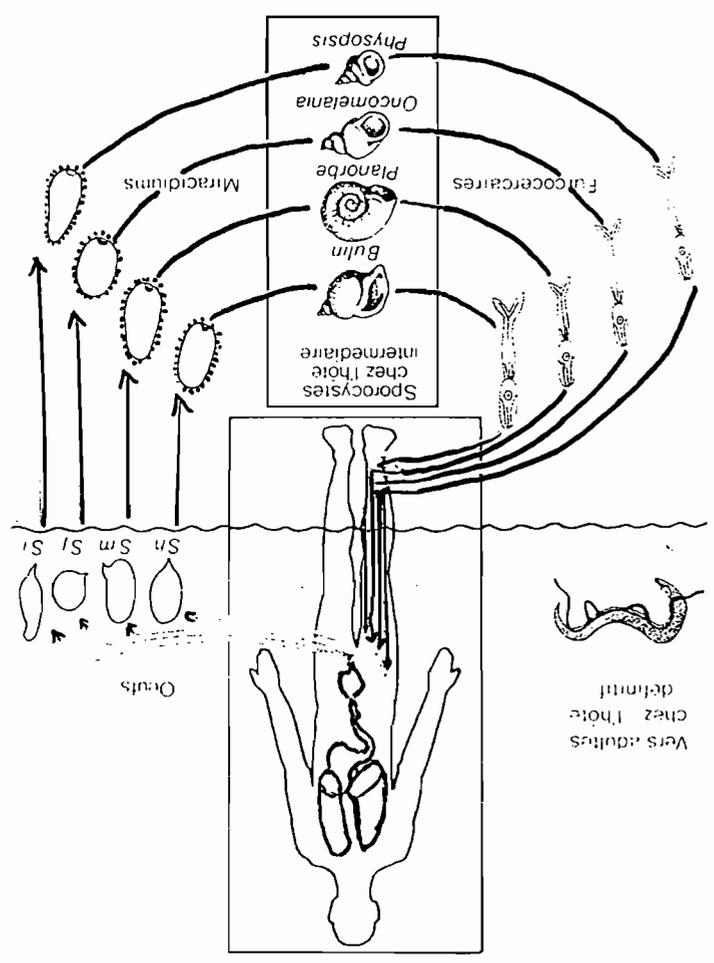
Cinq espèces de Schistosomes réparties en trois groupes sont pathogènes pour l'homme:

- groupe à éperon latéral : *Schistoma mansoni* .
- groupe à éperon terminal : *Schistoma haematobium* , *Schistosoma intercalatum*.
- groupe à éperon minuscule oeufs ronds : *Schistosoma japonicum* , *Schistosoma mekongi* [35, 33].

##### **b- Systématique:**

Les Schistosomes sont des vers plats non segmentés, sexués et hémato-phages. Ils appartiennent à la classe des trématodes et sont du genre *Schistosoma*. Le genre *Schistosoma* appartient à la sous-classe des Digena, Superfamille des Schistosomatidae. [27, 19]

Fig. 10-1 - Cycles évolués des bilharzoses (d'après Franck H. Netter).



L'individu malade émet des oeufs après maturation et différenciation sexuelle des Schistosomes. Les oeufs pondus qui réussissent leur migration, vont traverser la muqueuse et tombent alors dans la lumière de la vessie ou de l'intestin selon l'espèce. Ils seront éliminés dans l'eau par les excréments, et après éclosion, les miracidies pourront infester le mollusque hôte intermédiaire.

Dans l'eau et chez le mollusque, le miracidium bourgeonne, donnant des sporocystes (le miracidium ne peut survivre dans l'eau au delà de 48 heures). La suite du développement aboutit à la formation des furcocercaires, larves à queue fourchue de 500µm de long. Celles-ci s'échapperont du mollusque pour passer dans l'eau avant de pénétrer chez l'hôte définitif qu'est l'homme. L'homme s'infeste lors des contacts avec les eaux douces (bains, lessives, jeux) contaminées par les mollusques. Les cercaires se fixent sur l'épiderme grâce à leur ventouse antérieure munies d'épines. La pénétration à travers la couche cornée se fait en 10 (dix) minutes. Le trajet, du derme aux poumons se fait de façon passive par transport lymphatique ou veineux.

Certaines atteignent le foie, la phase migratoire dure au total 10 à 12 jours. La durée de vie des Schistosomes chez l'homme est d'environ 2 à 18 ans. [35] voir schéma page 15.

### **3-2- Manifestations pathologiques: [35,81,58]**

Les Schistosomes vivent principalement dans les grosses veines mésentériques, n'induisent pas de réactions inflammatoires des vaisseaux mais seulement l'apparition d'une immunité relative.

Les femelles peuvent simplement s'étendre ou quitter momentanément les mâles pour aller pondre dans les veinules de la paroi intestinale où de la vessie. Au tour des oeufs se développe une réaction inflammatoire qui aboutira au granulome bilharzien. Les lésions siègent dans la muqueuse, la sous-muqueuse et parfois la musculature de la vessie, des uretères et des organes génitaux pour *S. haematobium*, de l'intestin pour les quatre autres espèces.

Après pénétration transcutanée des furcocercaires, c'est la dermatite cercarienne le plus souvent très discrète, inapparente, avec des prurits. La phase d'invasion correspond aux réactions de l'organisme mis en contact avec les substances antigéniques et toxiques des vers et se traduit par des phénomènes allergiques avec de la fièvre, des sueurs et des céphalées. Il s'y associe des phénomènes urticariens, des arthralgies et myalgies, des oedèmes fugaces, de la toux et dyspnées, de la diarrhée. Pour *S. mansoni*, nous avons une hépatosplénomégalie, lisse parfois sensible.

Pour *S. haematobium*, on observe une atteinte vésicale et urétrale avec dysurie, pollakiurie qui sont diurnes et nocturnes. Des douleurs sus pubiennes exacerbées par la miction, obligeant le malade à se courber en deux et peuvent donner l'impression d'urines chaudes, une hématurie terminale.

Les formes sévères de la bilharziose peuvent aboutir à la mort suite à une fibrose du foie avec hypertension portale pour *S. mansoni*, une insuffisance rénale suite à des hydro néphroses pour *S. haematobium*. On observe alors une hypertrophie du foie et de la rate, des déformations de l'uretère et un mauvais fonctionnement des reins. [35, 60, 44, 41]

### 3-3- Epidémiologie:

La Schistosomiase est endémique dans 76 pays tropicaux d'Amérique d'Afrique et d'Asie. Le nombre de personnes infectées est estimé à 200 millions; et le nombre de personnes exposées au risque de l'infection est estimé à 600 millions [51, 50].

La maladie est en pleine extension suite à la création de nouvelles collections d'eau (barrages et retenues d'eau) et la multiplication des réseaux d'irrigations [50, 38, 39].

La bilharziose est considérée comme la deuxième maladie parasitaire après le paludisme [5] du point de vue de la santé publique et du point de vue de son impact socio-économique.

En Afrique des centaines de millions de personnes sont infestées . Les zones endémiques sont: la vallée du Nil, l'Afrique intertropicale, notamment l'Afrique de l'ouest et du sud . Elle sévit également au Maghreb en petits foyers (Sud de la Tunisie, Algérie et Maroc); Madagascar et l'île Maurice [35, 33].

La plupart des pays Africains sont endémiques de *S. mansoni*, *S. haematobium*, ou les deux . En Amérique latine et dans les Caraïbes c'est surtout *S. mansoni* qui y est présente. *S. intercalatum* existe en Afrique centrale, *S. mékongi* et *S. japonicum* dans la vallée du Mékong.

Au Mali, les espèces présentes sont : *S. haematobium* et *S. mansoni* .

La schistosomiase est largement distribuée dans les bassins du fleuve Niger, du fleuve Sénégal et dans les zones de retenues d'eau.

La bilharziose urinaire est présente un peu partout au Mali, les taux d'infestation sont très variables. Dans les régions de Kayes et Koulikoro, on observe aussi des taux d'infestation très élevés. La transmission la plus importante survient dans les zones de l'Office du Niger et du Plateau Dogon . Une enquête réalisée dans 6 villages de l'Office du Niger (ON) et du Plateau Dogon a montré que la bilharziose urinaire est une cause de morbidité importante au Mali [41].

Quant à la région de Sikasso elle est la seule zone où la bilharziose ne semble pas être un problème de santé publique, les prévalences n'atteignent presque jamais 20 % [63, 61, 62, 64].

Dans le delta intérieur du Niger, la prévalence, est deux fois sur trois supérieure à 60% , le taux de 100% est atteint à Foussi [33].

Quant à la bilharziose intestinale, elle ne constitue un problème de santé publique que dans les zones de l'Office du Niger et de Bangueda, et certain quartier du district de Bamako. Il y a également quelques foyers isolés dans la région de Kayes [63, 60].

A l'Office du Niger, la prévalence de *S. haematobium* est de 62,8 % , la prévalence, de *S. mansoni* 51,2 %. [66].

Les hôtes intermédiaires connus pour la bilharziose à *S. haematobium* sont : *Bulinus globosus*, *Bulinus truncatus*. Pour la bilharziose à *S. mansoni*, c'est *Biomphalaria pfeifferi* [8]

La présence de la bilharziose à *S. intercalatum* a été signalée au Mali par certains auteurs [39, 45], non confirmée par d'autres études récentes [9].

### **3-4 - Le point de la lutte contre les Schistosomiasés:**

#### **3 -4-1- Les stratégies du Programme National de Lutte Contre les Shistosomiasés (PNLCS) au Mali**

La sécheresse des 15 dernières années a obligé les gouvernements à adopter une politique de maîtrise de l'eau pour l'autosuffisance alimentaire. C'est ainsi que de nombreux barrages ont été construits en Afrique, souvent à l'initiative des populations. Malheureusement cette politique s'est accompagnée de profonds changements écologiques créant ainsi un biotope favorable à la prolifération des hôtes intermédiaires des *Schistosomes*. C'est ainsi qu'au Mali le Programme National de Lutte contre les Schistosomiasés (PNLCS) a été initié en 1979 avec l'assistance technique et financière de la coopération Allemande à travers la G.T.Z (gesellschaft für technische zusammenarbeit) pour contrôler l'extension des zones d'endémies.

Initialement, le programme de la lutte contre la Schistosomiasé opérait en trois phases: la préparation, l'intervention, et la maintenance.

La préparation consistait à identifier et à surveiller les régions endémiques puis à former le personnel local.

L'intervention était basée sur la chimiothérapie de masse au praziquantel à la dose unique de 40 mg/kg, l'éducation sanitaire, les mesures d'hygiène et d'assainissement et l'applicabilité de molluscicides.

La maintenance consistait au traitement des nouveaux cas dans les services de santé de base. La stratégie du PNLCS est actuellement basée essentiellement sur le traitement de masse au praziquantel, en plus de l'IEC et la promotion de l'hygiène et de l'assainissement.

Quand, le taux de prévalence de l'infection est supérieur à 50% et/ou le taux de prévalence des infections sévères est supérieur à 5% ( on entend par infection sévère la présence d'au moins 50 oeufs/10 ml d'urine et/ou 100 oeufs /gramme de selles), on effectue alors un traitement de masse au praziquantel . Dans le cas contraire, on effectue un traitement des cas positifs.

Dans la zone de l'O.N, un traitement de masse tous les deux (2) ans, et tous les 3 ans pour le Plateau Dogon a été proposé. Une stratégie reste à définir pour les autres zones.[64, 62].

La promotion de l'hygiène et de l'assainissement repose sur :

- l'éducation, l'information des communautés pour réduire le contact homme-eau (au niveau des gîtes contaminants).
- L'utilisation de latrines par les populations pour réduire la contamination.

Des mesures environnementales devraient être envisagées surtout dans la phase de préparation des nouveaux projets d'irrigation [38].

Pour l'O.M.S, l'objectif de la lutte contre la bilharziose devrait être la réduction de la morbidité due à la schistosomiase.

L'objectif essentiel du programme est de réduire le taux de prévalence de l'infection à un taux inférieur à 20%, une stratégie a été élaboré à cet effet pour les zones de l'Office du Niger et du Plateau Dogon. Un schéma de traitement et de retraitement tous les 24 mois par le praziquantel pour la tranche d'âge de 0-24 ans.[30]

Il a été proposé que l'engagement de la communauté dans la lutte contre les schistosomiasés reste un facteur vital [50, 37], qui est renforcé par la chimiothérapie.

Au Mali c'est le praziquantel et le Métrifonate qui sont utilisés.

### **3-4-2 - Le traitement:**

La réduction de la morbidité a été obtenue par la chimiothérapie et ne peut être maintenue qu'en effectuant parallèlement des mesures de prévention, tendant à réduire les contacts avec l'eau infestée par les cercaires [51].

La mise en évidence même d'un seul oeuf vivant dans un produit biologique doit aboutir à une décision thérapeutique.

Malgré le vif intérêt porté aux schistosomicides, beaucoup de molluscicides ont été utilisés. Le plus souvent utilisé, est le niclosamide, mais son coût est très élevé, et il a des implications environnementales [51]. Un intérêt de plus en plus grand est accordé aux molluscicides d'origines végétales.[50]

La posologie est de 40 mg par kilogramme de poids corporel en prise unique pour le Praziquantel.

La posologie est de 7,5 -10 mg/kg à deux semaines d'intervalle en trois prises pour le métrifonate.

Dans le monde d'autres antibilharziens sont utilisés: l'Oxamniquine, l'Oltipraz.

Des recherches sont en cours pour le vaccin.

### **3-4-3- La vaccination:**

La stratégie de l'O.M.S étant de réduire la morbidité le développement d'une stratégie vaccinale serait la bien venue.

La recherche sur le vaccin est prometteur. Beaucoup de molécules ont été testées pour le vaccin contre la schistosomiase, ce sont : Le glutathion-s-transférase (G.S.T), triose phosphate isomérase, glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénés et le 23 et 25 kDa protéine intégrante de la membrane de *S. mansoni* ( S.M 25) ou *S. japonicum* (S.J 23).[53, 58, 6, 83]

### **3-5 - Le Diagnostic Biologique:**

Le diagnostic des infections à *schistosoma* comprend les méthodes directes et indirectes. Le but de la démarche diagnostique est:

- La protection médicale des individus et patients,
- Le triage des groupes d'individus pour le traitement de masse et des études épidémiologiques [21]

Le choix d'une méthode de diagnostic dépend de plusieurs facteurs:

- Le but du diagnostic (diagnostic individuel, screening, étude épidémiologique)
- Les contraintes financières,
- Le nombre de personnes à examiner,
- La prévalence et l'intensité de la maladie,
- Les équipements disponibles au laboratoire ,
- L'habileté et l'expérience du chercheur,
- les caractéristiques du test. [24]

#### **3-5- 1- Les méthodes de diagnostic biologique directe des schistosomiases:**

Elles sont basées sur la mise en évidence des oeufs dans les excréments et les pièces de biopsies. Dans les selles sont recherchés généralement les oeufs de *S. intercalatum* , de *S. japonicum*, de *S. mansoni*, et /ou de *S. mekongi*.

Dans les urines, sont recherchés des oeufs de *S. haematobium*.

Les biopsies rectales (biopsie de la muqueuse rectale : B.M.R) sont utilisées pour examiner les oeufs de *S. mansoni* , *S. intercalatum*, de *S. japonicum* et de *S. haematobium*. [35, 52] . Bien entendu on retrouve parfois dans les selles des oeufs de *S. haematobium* .

#### **a- Dans les selles:**

Il est effectué dans les selles :

- Examen microscopique direct entre lame et lamelle au faible grossissement.
- Examen après techniques d'enrichissements:
  - . Technique de Kato
  - . Technique du MIF concentration

. Technique de Ritchie

. Technique de Faust et Ingalls à la glycérine

**b- Dans les urines**

Dans les urines sont effectués :

- Examen direct microscopique du culot de centrifugation entre lame et lamelles.
- Filtration sur papier Wathman

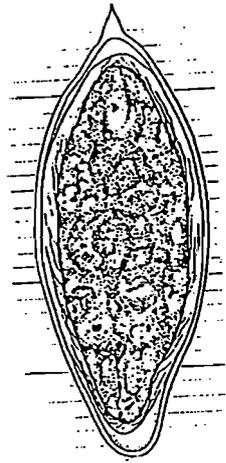
**c- Examen des pièces de biopsie :**

- Biopsie de la muqueuse rectale (BMR)
- Biopsie de tumeurs ou de pièces opératoires.

Il faut signaler que la B.M.R ne fait pas recours aux méthodes anatomopathologiques de fixation et de coloration auxquelles sont soumises les pièces opératoires provenant de tumeurs. Le fragment de B.M.R est directement examiné entre lame et lamelles.

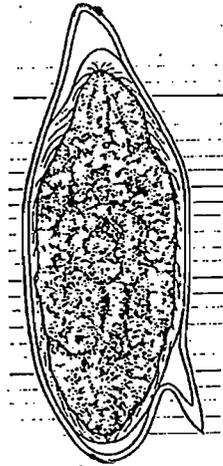
**d- Résultats des méthodes directes de diagnostic**

Les oeufs de schistosome sont faciles à identifier. Ils sont caractérisés par leur grande taille et la présence d'éperon.



*Schistosoma haematobium*

. Oeufs de *S. mansoni*



*Schistosoma*  
*mansoni*

**Avantages:**

les techniques coprologiques et urinaires sont faciles, réalisables partout, peu onéreuses et spécifiques [52]. Par contre les techniques de B.M.R et d'examen des pièces biologiques nécessitent des compétences pour exécuter la biopsie et pour les examens anatomopathologiques.

**Inconvénients:**

Elles sont peu sensibles parfois, et dépendent des fluctuations de l'excrétion des oeufs au cours de la journée, d'un jour à l'autre et au cours de l'évolution de la maladie.

**3-5- 2- Les méthodes indirectes de diagnostic biologique des schistosomiasés:**

Elles mettent en évidence les témoins plus ou moins récents de la présence du parasite dans ses différents stades évolutifs.

Ce sont :

**- Les techniques d'imagerie :**

Ce sont l'ultrasonographie, la pyélographie, qui sont des tests qui détectent les lésions anatomiques provoquées par la présence des schistosomes: *S.haematobium* et *S. mansoni* .[24]

Dégremont et Al en 1985 ont trouvé que l'ultrasonographie, comparée à la pyélographie intraveineuse et la cystoscopie, est un moyen valable de détection rapide de la morbidité due à *S.haematobium*.

Kardoff et Al en 1994 ont utilisé l'ultrasonographie pour établir la présence de la fibrose périportale du foie ( F.P) au Mali et les caractéristiques hépatosplénomégaliqes de la schistosomiasé. Ils n'ont pas trouvé de corrélation entre le nombre d'oeufs émis et la fibrose.

**- Les techniques chimiques et cliniques:**

Les infestations par les schistosomiasés sont accompagnées d'une altération du tableau clinique et hématologique.

La détermination des protéines urinaires et sanguines a été recommandée comme test de screening dans les infections à *S. haematobium*. La détermination d'une hématurie par bandelettes (haemastix) comme une méthode de diagnostic est aisée et rapide [59, Sacko, en communication personnelle].

Mott.K.E (1990) par utilisation de bandelettes imprégnées d'un réactif chimique et une technique de filtration des urines a confirmé une sensibilité de 80% et une spécificité supérieure à 90%.

### **- Les méthodes hématologiques: [52]**

Elles mettent en évidence: l'hyperéosinophilie sanguine de la phase de migration larvaire et l'éosinophilie modérée persistante du stade de ver adulte.

### **- Les techniques immunologiques:**

Toutes les techniques mises au point en immunologie ont été adaptées au diagnostic indirect des schistosomiasis [7, 19, 69, 5, 20, 23,55, 17]:

- I.D.R ( intradermo-réaction)
- Les techniques de déviation du complément
- Immuno-électrophorèse
- précipitation des complexes
- Dosage radioallergosorbant (R.A.S.T)
- Western blot
- Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA);
- Indirect Haemagglutination Assay (IHA);
- Indirect Immunofluorescence Assay (IFA);
- Time Resolved Fluoroimmuno Assay (TR-FIA);
- Radio Immuno Précipitation polyEthylène glycol (PEG) Assay (RIPEGA);
- Immunoradiométrique Assay (IRMA).

### **Avantages et inconvénients**

Les anticorps et les complexes immuns sont détectés dans le sérum seulement, mais les antigènes circulants peuvent aussi être détectés dans l'urine, le sérum, et le lait maternel.

Le diagnostic immunologique est basé en général sur la détection des anticorps et des antigènes.

Les anticorps sont moins spécifiques, sensibles mais ne permettent pas, de différencier une infection active d'une infection ancienne [17], du fait de leur retard d'apparition et de leur durée dans l'organisme.

Des réactions croisées existent avec les anticorps lewis X et les anticorps des schistosomes. Par contre la détection des antigènes circulants présente un grand intérêt sur celle des anticorps qui a montré ses limites:

- La présence d'antigènes circulants indique une infection par rapport à la présence d'anticorps qui peut être le résultat d'une infection ancienne.
- La présence des antigènes circulants permet un suivi après traitement, car elle donne des informations sur le métabolisme du trématode.
- Une corrélation existe entre la quantité d'antigène produite et le nombre de trématodes présents dans l'organisme.
- La détection des antigènes, permet un suivi après traitement et la détection des faibles infestations [21, 22].

Nous n'insisterons que sur les techniques autour desquelles s'articule notre étude, à savoir la technique du Kato, la filtration et les techniques mettant en évidence les antigènes circulants. Dans nos matériels et méthodes nous décrirons en détails ces méthodes. Mais au paravent nous donnerons un aperçu rapide sur les antigènes circulants recherchés.

### **Les antigènes circulants :**

En plus des antigènes circulants du ver adulte, on a les antigènes solubles de l'oeuf (SA: soluble egg antigène ), du miracidium, de la cercaire [17,16]. Les antigènes du ver adulte recherchés sont:

- l'antigène anodique circulant (CAA: circulating anodic antigène );
- l'antigène cathodique circulant ( CCA: circulating cathodic antigen ).[72]
- **C.A.A:** c'est un proteoglycane.

### **Propriétés moléculaire:**

- 41% d'hydrates de carbone: GALNAC: GAL: GLCNAC: MAN: GLCA= 17,2: 2: 19: 0,4:
- 5% d'acide aminé: riche en glycine, faible proportion de phénylalanine et tyrosine.

### **Propriétés physico-chimiques**

Chargé négativement. Le poids moléculaire par:

- ultracentrifugation inférieur à 10 Da,
- gel filtration 50- 300 KDa
- électrophorèse sur gel de polyacrylamide supérieur à 800 KDa,
- ultrafiltration supérieur à 100 KDa,
- ultracentrifugation des complexes immuns 70 KDa.

La mobilité immuno-électrophorétique est fortement anodique. Il est résistant pendant 30 minutes à température très élevée et est détruit par le périodate. Pas de pic d'absorption à 280nm ou à 260nm . Détecté chez l'homme dans le sérum et dans l'urine.

**Propriétés immunologiques:**

Les anticorps spécifiques sont démontrés 3 à 4 semaines après infection. Le niveau d'IgM est plus haut que celui d'IgG.

**Propriétés biologiques :**

L'antigène spécifique du genre *schistosoma*, détecté chez *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*, *S. curasoni*, *S. bovis*, *S. matthei*.

**Localisation:**

Chez le ver adulte et la schistosomule en développement: premièrement dans les cellules épithéliales de l'intestin, muqueuse de l'intestin chez le corps du lysosome, associé avec les leucocytes intracellulaires de l'hôte, dans l'appareil de golgi et les vésicules cytoplasmiques.

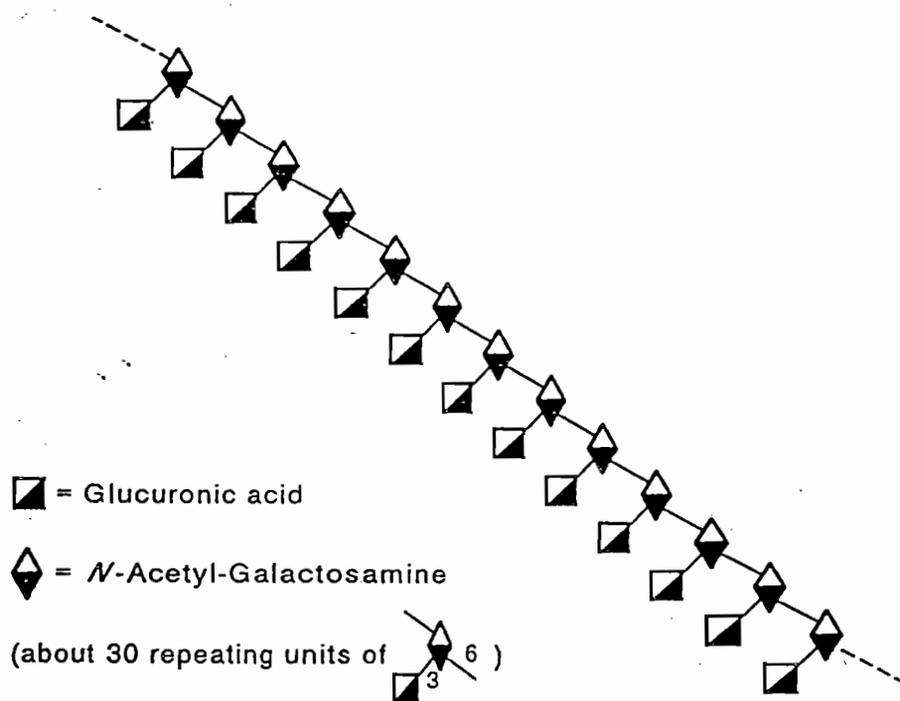
Chez les cercaires: primordialement dans l'oesophage, dans le cytoplasme, et la surface protectrice de l'épithélium de l'intestin.

Aussi, ils ont été trouvés chez l'hôte dans le glomérule rénale, les cellules de kupffer-les macrophages de la rate.

Les aminoacides et les hydrates de carbone constituent 46% du poids total des matériels analysés (ce matériel résiste à l'hydrolyse de façon incomplète); les eaux salées constituent le poids restant. [ 21, 72].

## Structure des hydrates de carbone trouvés dans CAA

polysaccharide



**C.C.A:** ou l'antigène M est un polysaccharide.

**- Propriétés moléculaires:**

- 37% d'acides aminés: riche en glycine, sérine et thréonine. Faible proportion de phénylalanine et tyrosine.

- 63% d'hydrates de carbone.

GALNAC: GAL: GLCNAC: FUC: MAN= 1: 6,6: 2,9: 3,0: 1,6 .

**- Propriétés physico-chimiques:**

Charge neutre ou légèrement positive. Le poids moléculaire par:

- gel filtration 10-300 KDa

- électrophorèse sur gel de polyacrylamide supérieur à 400 KDa

- ultracentrifugation des complexes immuns 40 KDa.

La mobilité immunoélectrophorétique est cathodique. Résistant pendant 120 minutes à température très élevée. 10% d'acide trichloroacétique, protéase, ribonucléase, neuraminidase, amylase. Détruit par le périodate.

**- Propriétés immunologiques:**

Les anticorps spécifiques ont été démontrés après 3 à 4 semaines d'infection. Le niveau de IgM est plus élevé que celui de IgG.

**- Propriétés biologiques:**

Cet antigène est spécifique du genre *Schistosoma*. Il a été démontré chez *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*, *S. curassoni*, *S. bovis*, *S. matheei* [16]. Ils sont détectés dans le sérum, l'urine ou le lait de l'hôte.

**Localisation:**

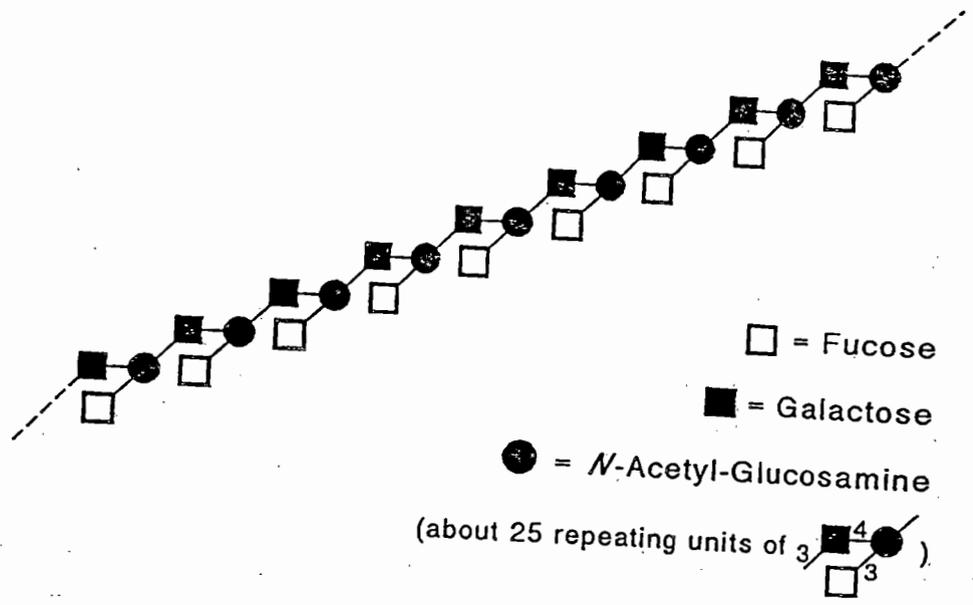
Chez le ver adulte et la schistosomule en développement: dans les cellules épithéliales de l'intestin, muqueuse de l'intestin, dans le corps du lysosome, dans les cellules de l'appareil de Golgi et les vésicules cytoplasmiques mâles des téguments. Dans les oeufs on a des résultats contradictoires. Il n'a pas été retrouvé dans le miracidium.

Dans les cercaires, ils sont dans le cytoplasme et dans la surface protectrice de l'épithélium de l'intestin. Ils ont été retrouvés également chez l'hôte dans les glomérules rénaux, les cellules de Kupffer, les macrophages de la rate.

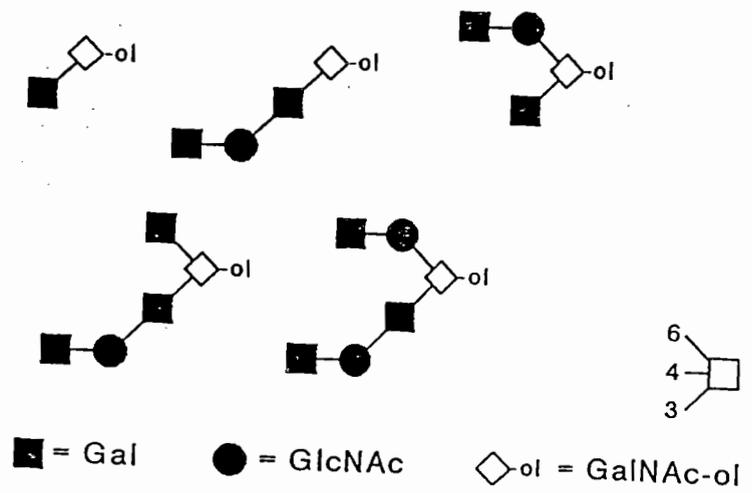
Les pourcentages des acides aminés et des hydrates de carbone sont donnés par des auteurs. Le pourcentage des acides aminés et des hydrates de carbone est obtenu probablement en faisant une soustraction au 100% du poids des sucres après analyse par méthylation. [72].

Structure des hydrates de Carbone trouvés dans CCA

polysaccharide



oligosaccharides



Ces antigènes circulants sont mis en évidence par sandwich ELISA en utilisant les anticorps monoclonaux.

### **Les anticorps Monoclonaux:**

Avec la découverte des anticorps monoclonaux spécifiques pour les antigènes du ver adulte, la détection des antigènes circulants est devenue plus sensible(100%) et spécifique. Les anticorps monoclonaux sont des Ac de la même lignée produites chez les souris. La production des anticorps monoclonaux a eu non seulement comme résultat la visualisation des bandes optimalement performant dans le diagnostic, mais aussi a permis l'étude du répertoire des épitopes pour les Ag importants de schistosomes.[20].

Les anticorps monoclonaux utilisés sont des IgG et des IgM. IgG1 est utilisé pour la détection de CAA . Le premier Ac est le 120-IB10.A puis le second qui est le conjugué est le 120-IB.10. A/AP. Pour la détection de CCA, le premier anticorps est IgG3: 54-5C-10A, le conjugué est IgM biotinylé: 8-3C-10BDACH.[14].

# 4- METHODOLOGIE

## **4- METHODOLOGIE**

Notre étude s'inscrit dans le contexte du projet STD3 (Science Technologie et Développement dans sa troisième phase) de la Commission Européenne intitulé: « Epidémiologie et dynamique de transmissions des infections dues aux schistosomes du groupe haematobium au Mali »

Il s'agira pour nous de comparer les méthodes de diagnostic parasitologiques aux méthodes de diagnostic immunologiques.

### **4-1- Les lieux d'étude:**

#### **4-1-1- Description lieux:**

Trois zones ont été identifiées par le projet en fonction de leur endémicité et du type d'infection. Il s'agit:

- Du Plateau Dogon (cercle de Bandiagara): zone endémique à prédominance *S. haematobium*.
- Office du Niger (O.N), cercle de Niono: zone endémique à infection mixte : *S. haematobium*, *S. mansoni*.
- Région de Sikasso, cercle de Bougouni: zone considérée comme non endémique.

Dans la zone du plateau Dogon sur six (6) villages enquêtés, deux (2) villages ont été retenus dans l'arrondissement central de Bandiagara, il s'agit de Boro et Kassa.

Dans l'O.N le sondage parasitologique s'est porté sur quatre (4) villages dont deux ont été retenus : il s'agit de Siguivouce et Ringandé.

Dans la zone de Bougouni après sondage parasitologique sur deux villages, un (1) a été retenu, il s'agit de Massabla.

Dans les villages de Boro et Kassa, les premiers résultats ont fait l'objet de publication et s'est portée sur la détection des antigènes CAA dans le sérum [10]

Notre étude s'est portée sur les villages de Siguivoucé puis Massabla.

#### **• Siguivoucé:**

L'ON est une entreprise publique à caractère agro-industriel et commercial, qui a été créée en 1932 avec la construction du barrage de Markala à 35 Km en aval de Ségou. Elle gère des terres concédées par l'Etat et exploitées par des colons, qui lui sont liés par un contrat.

Le village de Siguivouce est situé dans l'arrondissement central de Niono à 15 Km de Niono dans la région de Ségou. La population est composée en majorité de Mossis, en plus on a de Bambara, Mianka, Peulh, Dogon, et des Sarakolés. Il est peuplé de 503 habitants. En plus de périmètres aménagés, la population dispose des terres pluviales où on cultive du mil, du sorgho en plus du riz dans les périmètres irrigués.

- **Massabla:**

Situé dans l'arrondissement central de Bougouni, dans la 3ème région ( Sikasso), à 7 Km de la ville de Bougouni. Massabla est un petit village peuplé de 352 habitants. L'activité principale de la population est l'agriculture et l'élevage. Les cultures pratiquées sont :le coton et le mil. La population est composée essentiellement de peulh et de Bambara.

#### **4-1-2- Le choix des villages:**

Le choix des villages a été effectué de la façon suivante:

Nous avons identifié les villages n'ayant pas été couverts par le PNLCS; ceux qui sont situés dans l'arrondissement central du cercle dont l'accès est facile ; et ceux ayant un minimum de structure d'accueil pour l'hébergement de l'équipe.

Nous avons identifié les villages proches d'une canalisation, petits barrages ou un cours d'eau. le consentement éclairé de la population a été obtenu avant le démarrage de l'étude.

#### **4- 2- La période d'étude:**

Une étude longitudinale a été effectuée sur chacun des villages : Siguivouce et Massabla que nous avons retenus, pour déterminer la prévalence, l'intensité de l'infection à l'enquête initiale, six (6) semaines après le traitement, puis à un an après le traitement. L'étude comprenant l'examen parasitologique des urines des selles, et la détection des antigènes circulants (CAA et CCA) dans le sérum et dans l'urine des sujets. Elle a été effectuée de 1993 à 1996.

#### **4-3- Echantillonnage:**

Notre échantillon est celui qui a été retenu au cours du sondage parasitologiques en novembre 1993. A l'enquête initiale à Boro 279 urines , et 267 prélèvements de sang ont été effectués. A Kassa 211 urines et 197 prélèvements de sang ont été effectués.

A l'ON 438 urines et 328 selles ont été examinées dans les villages de Niono.

A Massabla à l'enquête initiale 237 urines ,157 selles et 230 prélèvements de sang ont été effectués.

#### **4- 4- Prélèvement et collecte des échantillons:**

Avant le sondage parasitologique, les villageois ont été informés du plan de travail. Ils ont toujours été rappelés au moins un jour avant les prélèvements. Le prélèvement concerne toute la population ayant plus de 2 ans.

Les personnes à examiner sont classées par famille, en prenant note de l'âge et du sexe. A chacune des personnes était attribuée un pot de 40 ml numéroté. Ils sont appelés un à un devant l'équipe de prélèvement de sang, ensuite, ils apportaient dans les pots numérotés. Après prélèvement recueil, collecte des urines, des pots de selles leur sont remis numérotés également dans lesquels ils apportaient les selles le lendemain. Un seau placé dans un endroit bien connu du village servira à recueillir les échantillons de selles.

Les urines prélevées sont divisées en deux parties:

- 10 ml sont prélevées avec la seringue pour la filtration,
- 1,5 ± 0,5 ml dans les éppendorfs gardées au froid puis transportées à Bamako dans le laboratoire puis gardés au congélateur à -20° C jusqu'à son utilisation.

Les prélèvements de sang (5 ml) sont centrifugés, les sérums sont recueillis dans les éppendorfs (1,5ml ± 0,5) gardés au froid et transportés à Bamako, et sont gardés au congélateur à -20°C jusqu'à son utilisation.

La filtration et le Kato-Kartz sont effectués sur le terrain.

#### **4-5- Les méthodes d'études**

##### **4-5-1- Examen parasitologique des urines et selles**

Les méthodes utilisées sont : la filtration pour les urines et la méthode de Kato-Katz pour les selles.

##### **4- 5-1-1- La filtration urinaire:**

Elle est basée sur la mise en évidence des oeufs de *S. haematobium* dans l'urine.

##### **a- Le Matériel:**

- compteur,
- solution de ninhydrine (15mg/ml ).
- lames porte objet,
- pinces,
- papier filtre (wathman n°1 ),
- seringue 10 cc (mouette ),
- porte filtre ,
- plaque milipore pour le séchage du papier filtre,
- pots pour recueillir les prélèvements,
- crayon de papier pour numéroter le papier wathman n°1,
- marqueur pour numéroter les pots,
- microscope ,

##### **b- Le réactif:**

- Poudre de ninhydrine 15 mg
- pour 1 ml d'eau distillée.

### **c- Mode opératoire :** [52]

L'échantillon d'urine prélevé est soigneusement homogénéisé en secouant le pot d'urine. Pour la filtration proprement dite : filtre et porte filtre sont adaptés à la seringue. On prélève 10ml d'urine sur l'échantillon à l'aide de la seringue puis on chasse les 10ml d'urines à travers un filtre en papier (wathman n°1 ).Pour finir on aspire de l'air afin de chasser toute l'urine à travers le filtre.

On ouvre alors le porte filtre et on enlève le filtre à l'aide d'une pince . Le filtre est coloré avec la solution de ninhydrine, celle ci colore les oeufs de schistosomes en violet. Après séchage des papiers filtre sur millipore (plaque ) ,ils sont lus au microscope leitz au grossissement 4 ou 10 . On compte le nombre des oeufs par filtre, cela correspond au nombre d'oeufs par 10 ml d'urine. La charge ovulaire est exprimée en nombre d'oeufs/10ml d'urines.

### **4-5-1-2- Kato-Katz:**[52]

Cette méthode est utilisée pour la mise en évidence des oeufs de *schistosoma mansoni* dans les selles à partir d'un étalement de matières fécales.

#### **a- Le Matériel:**

- lames porte objet,
- tamis en maille d'acier ,
- pots pour le recueil des échantillons,
- seau pour la collecte des échantillons,
- papier cellophane ordinaire découpé en rectangle 5 Cm sur 2 Cm,
- marqueurs,
- spatule en bois pour manipuler les selles,
- calibreur pour Kato-Katz,
- microscope électrique,
- papier buvard,
- compteur.

#### **- Le réactif:**

Solution employée: Solution de vert de Malachite.

- . Glycerine 100ml
- . Vert de Malachite 3% 1ml
- . Eau distillée 1000ml.

### **b- Mode opératoire:**

L'échantillon de matière fécale est passé à travers les mailles d'un tamis à l'aide d'une spatule en bois de façon à éliminer les gros éléments. Une petite partie des matières fécales tamisées est portée sur un calibre en plastique posé à plat sur une lame porte objet. On remplit entièrement le trou du calibre avec les échantillons de matières fécales et on égalise le niveau de la surface supérieure avec une spatule.

L'orifice du calibre nous donne une quantité de selle sur la lame après l'avoir enlevé. Un rectangle de cellophane qui a été trempé pendant au moins 24 heures dans la solution de vert de malachite, est placé sur l'échantillon. La lame est retournée sur la table ayant un papier buvard pour étaler uniformément l'échantillon sous la cellophane. Après, au minimum une demie heure, les oeufs de schistosomes éclaircissent et les lames peuvent être lues au microscope à l'objectif 10.

L'orifice du calibre contient 41,7mg de matières fécales. Il faudra donc multiplier par 24 le nombre d'oeufs observés au microscope pour obtenir le nombre d'oeufs par gramme de selles.

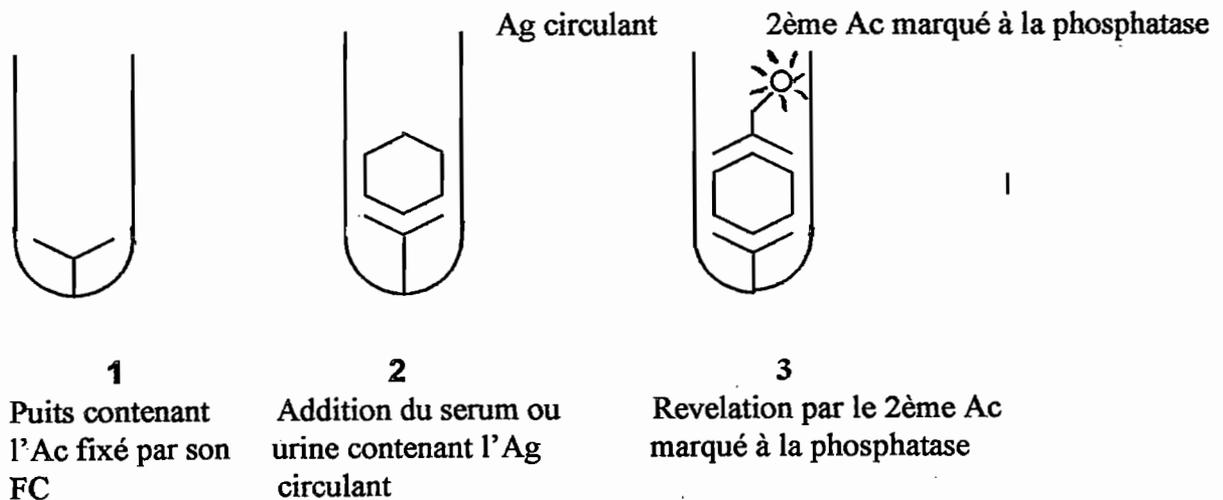
### **4-5-2- La recherche des Antigènes circulants du ver adulte:**

Le test immunologique dont j'ai effectué pour la détection des antigènes circulants des schistosomiasis est le sandwich ELISA, sur sérum et sur urine.

#### **a- Le principe:**

Le principe de la réaction est basé sur la réaction antigène - anticorps. Les Ag recherchés sont pris en sandwich entre deux Ac monoclonaux. La réaction est révélée en ajoutant un substrat. Une réaction positive se traduit par une coloration jaune.

Le premier Ac monoclonal est fixé sur la plaque par son fragment FC pour permettre au fragment Fab d'attraper l'Ag. Le 2ème Ac marqué par une enzyme est ajouté au complexe Ac1 et Ag. La révélation est faite par le substrat de l'enzyme qui donne une coloration caractéristique.



## **b - Le matériel:**

- congélateur pour stocker les prélèvements, les Ac, les témoins positifs, les plaques coatées.
  - distillateur,
  - bidon de 20 litre pour stocker l'eau distillée,
  - centrifugeuse,
  - bain-marie,
  - thermomètre,
  - pissettes de 500ml,
  - plaques de microtitration « nunc » à 96 trous (maxisorb),
  - couvercle des plaques,
  - papier parafilm,
  - cupule en plastique (eppendorf)
  - portoir micro test tube rack,
  - micropipettes pipetman gilson (20, 200, 1000 $\mu$ l) à volumes variables,
  - multipipettes à 12 bouts (labsystems finnpipette)
  - bouteille de 1 litre sombre pour la conservation des tampons,
  - vortex- réfrigérateur: liebherr,
  - verrerie: erlemeyer, grande éprouvette, 50, 100, 500, 1000ml,
  - pipette pasteur,
  - embouts pour micropipettes,
  - centrifugeuse pour eppendorf (centrifuge 5415C)
  - vortex: autovortex mixer Sa-1,
  - agitateur magnétique (magnetic stirrer SM-1)
  - pipette en verre,
  - Ph-mètre (microprocessor Phmeter WTW Ph 95),
  - balance automatique (Mettler PJ 300)
  - incubateur (jouan),
  - chronomètre compteur (Hanhart),
  - cupule rectangulaire pour multipipette (pour les solutions à l'emploi),
  - un laveur de microplaque: Titertek Handiwash 110, communiquant avec une bassine en plastique de 40 litres contenant la solution de lavage,
  - spectrophotomètre: labsystems multiskan plus,
  - imprimante: Epson LQ 570,
- les spatules en fer pour manipuler les réactifs en préparations,
  - chiffons adaptés ayant des trous pour tenir les eppendorfs au bain-marie,

## **c- les réactifs: (voir annexe)**

## **d- Le mode opératoire:**

### **d-1 Prétraitement des échantillons:**

Les échantillons sont enlevés du congélateur, puis sont laissés dans les portoirs (microtest tube rack) à la température ambiante pour les décongeler.

Les échantillons sont homogénéisés en agitant doucement les tubes par retournement. Les échantillons sont prétraités afin de détruire les protéines urinaires, et décomplémenter le sérum.

**- Sérums:**

Dans une cupule en plastique (eppendorf) ajouter 50 µl de sérum à 150µl de solution alcaline Mélanger puis incubé pendant 30 minutes à 70°C au bain-marie  
 . Mélanger à l'aide d'un vortex pendant 3 minutes  
 . L'échantillon est ainsi dilué 4 fois et est prêt pour l'emploi.

**- Urines:**

. **Pour CCA:** ajouter 100µl d'urine décongelée homogénéisée à 100µl de solution alcaline, mélanger au vortex. incubé pendant 30 minutes à 70°C au bain-marie mélanger pendant 3 minutes au vortex.

L'échantillon est dilué de 2 fois et est prêt pour l'emploi.

. **Pour CAA:** 200µl d'urine décongelée dans une cupule (eppendorf). incubé au bain-marie pendant 30 minutes à 70 °C. Mélanger au vortex. L'échantillon est prêt pour l'emploi, dilué 1 fois.

**d- 2- Détection de CAA [14]**

**\* Coating dans du PBS 0,035 M**

- les cupules des anticorps monoclonaux sont enlevées du congélateur, et sont laissées à la température ambiante pour qu'elles se décongèlent dans les portoirs (micro test tube rack)

- faire une dilution des anticorps monoclonaux à la concentration de 5µg/ml

- pipetter 100µl de la solution d'anticorps à 5 µg/ml dans chaque cupule de la plaque de microtitration avec la multipipette à 12 bouts

- couvrir la plaque avec le couvercle l'emballer avec du papier aluminium le mettre dans l'incubateur à 37°C pendant 3 heures ou une nuit à la température ambiante, la réaction se passe dans l'obscurité,

- enlever la plaque de l'incubateur la débaler puis laver avec la solution de lavage par le laveur de microplaque 6 fois, puis sécher contre un papier pour enlever les fines gouttelettes de la solution de lavage.

**\*Post coating avec la solution de BSA 0,033%**

- pipetter 120 µl de la solution de BSA dans une cuve avec la multipipette dans chaque trou de la plaque de microtitration

- couvrir, emballer avec du papier aluminium ,incuber pendant une heure à 37°C

- enlever la plaque de l'incubateur laver 6 fois avec la solution de lavage avec le laveur de microplaque tout en renversant d'un coup sec le contenu de la plaque

- taper contre le torchon puis l'essuyer

- la plaque ainsi coatée est prête pour l'emploi ou la conservation, couverte avec le papier parafilm à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant  $\pm 2$  mois
- diluer en série de  $\frac{1}{2}$  les échantillons prétraités et le témoin positif (AWA-TCA à 100 mg/ml ) dans la solution tampon de dilution du CAA
- couvrir la plaque puis l'emballer avec le papier aluminium et incuber pendant 1 heure à  $37^{\circ}\text{C}$  dans l'incubateur
- enlever la plaque, débaler puis laver 6 fois avec la solution de lavage par la machine
- renverser la plaque contre un torchon propre puis l'essuyer
- diluer la solution d'anticorps conjuguée: Ac/AP selon la dilution indiquée sur la cupule, mettre la solution d'Ac conjuguée dans une cuve,
- pipetter avec la multipipette la solution d'Ac/AP et ajouter dans chaque trou de la plaque de microtitration,
- couvrir de nouveau, puis l'emballer avec le papier aluminium puis le mettre à l'incubateur à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 1 heure,
- enlever la plaque puis débaler et le laver six (6) fois et l'essuyer
- pipetter avec la multipipette 80  $\mu\text{l}$  de la solution de substrat P-NPP (paranitrophényl phosphate ) dans chaque trou de la plaque de microtitration
- couvrir de nouveau, l'emballer et le mettre au réfrigérateur pendant toute la nuit
- enlever la plaque puis débaler et le mettre à la température ambiante puis procéder à la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde 405nm, les résultats des densités optiques mesurées sont imprimés automatiquement par l'imprimante.

#### **d-3- détection de CCA:** [19]

C'est la même procédure à la seule différence que le témoin positif pour CCA est à la concentration de 250ng/ml et que le conjugué et l'enzyme ne sont pas liés ce qui donne une étape supplémentaire.

Après le conjugué ajouter l'enzyme qui est la streptavidine/phosphatase alcaline en mettant 80 $\mu\text{l}$  de la solution dans chaque trou de la plaque de microtitration ,couvrir ,emballer et l'incuber pendant 30 minutes à  $37^{\circ}\text{C}$  après ajouter le substrat.

#### **d-4- Interprétation des résultats:**

Le spectrophotomètre analyse les plaques en donnant la valeur de la moyenne ( X ) la déviation standard (SD) et le coefficient de variation (CV) en pourcentage. Les valeurs de l'échantillon négatif doivent être uniforme et le seuil (CO= cut-off) est calculé à partir de l'échantillon négatif.

$CO = X + 3SD$  quand le  $CV < 5\%$

$CO = X + 2SD$  quand le  $CV$  est compris entre  $5\%$  et  $10\%$   $5 < CV < 10\%$

La sensibilité du test est déterminée sur la plaque à partir des valeurs du positif (AWA-TCA), qui doivent au moins atteindre la 7<sup>o</sup> cupule (selon la dilution)

Un échantillon est considéré comme positif quand la valeur de sa densité optique est supérieure à la valeur du seuil.

Un échantillon est considéré comme négatif quand la valeur de sa densité optique est inférieure au seuil.

Le titre est ainsi déterminé à partir de la dilution initiale.

Sur nos résultats, nous avons effectué les tests suivants pour l'analyse:  
 si,  $n_0$  = nombre d'oeufs par personne/10ml d'urine ou par gramme de selles  
 $n$  = nombre total d'échantillons examinés

Intensité(I), par la moyenne géométrique du nombre des oeufs ou des titres =  $\sqrt[n]{E \text{ Log}(n_0+1)}$

Moyenne arithmétique =  $E n_0/n$

Prévalence(P) = nombre de cas positif /nombre total des personnes examinées

Test de comparaison Chi2 (X2)

La sensibilité (S), la spécificité(Sp), les valeurs prédictives positives et négatives: VPP et VPN

E = somme

Nous avons réalisé des prélèvements dans un village pris au hasard en zone d'endémie bilharzienne et dans un village pris au hasard en zone non endémique pour la même parasitose.

En zone endémique le village choisi s'appelle Siguivoucé.

En zone non endémique le village choisi s'appelle Massabla.

Les mêmes examens ont été réalisés sur les prélèvements effectués en zone d'endémie et sur ceux effectués en zone non endémique.

Nous avons réalisé trois passages dans chacun des villages.

Le premier passage a été appelé enquête initiale, il correspond à l'étape avant le traitement.

Dans la zone d'endémie lors de notre premier passage nous avons effectué 228 prélèvements. Mais dans la zone non endémique le manque de réactif nous a contraints à ne considérer que 39 prélèvements .

C'est après le traitement que presque la même taille d'échantillons a été examinée dans les deux zones ( 32 et 39 échantillons respectivement à siguivoucé et Massabla).

Nos résultats vont être donnés selon l'ordre suivant :

- résultats de l'enquête initiale en zone endémique et non endémique pour l'ensemble des tests biologiques utilisés,
- caractéristiques épidémiologiques de l'échantillon examiné en zone d'endémie et en zone non endémique ( prévalence selon la catégorie d'âge et selon le sexe.),
- comparaison des prévalences en zone d'endémie et en zone non endémique,
- comparaison des résultats des différents tests utilisés dans le même village en zone endémique à l'enquête initiale,
- la sensibilité et la spécificité de la méthode de détection des antigènes circulants lors de l'enquête initiale en zone d'endémie, et en zone non endémique.

# **5- les Résultats**

## **5- les Résultats**

Avant le traitement, les prévalences parasitologiques ont été déterminées sur les échantillons d'urines pour *S.haematobium* et de selles pour *S.mansoni*.

Les prévalences sérologiques ont portés sur la détection des antigènes circulants dans le sérum (SCAA, SCCA) et dans les urines ( UCAA, UCCA).

A Siguivouce au total 228 échantillons ont été examinés pour chaque test et 39 échantillons à Massabla.

Après le traitement à Siguivouce, cette détermination a été effectuée 6 semaines et 1 an après le traitement sur 32 échantillons; par contre à Massabla la taille des échantillons reste inchanger à tous les temps ( 39 échantillons).

Les résultats sont illustrés dans les tableaux ci-dessous.

### **5-1- Les résultats descriptifs :**

#### **5-1-1-Siguivouce:**

#### **Tableau n° I**

Repartition du taux de prévalence de la Bilharziose selon le type de l'infestation en fonction des différentes zones avant traitement.

Type d'infestation \ Village	Siguivouce		Massabla	
	n	P	n	P
<i>S.haematobium</i>	228	82	39	0
<i>S.mansoni</i>	228	38	39	0

P = prévalence en poucentage (%)

n = nombre total d'échantillons examinés

Nous considérons comme référence les tests parasitologiques: Filtration des urines pour *S. haematobium* et Kato-Katz pour *S.mansoni*.

A Siguivoucé la prévalence de *S.haematobium* est plus forte avec 82 % et 38 % pour *S. manoni*.

Par contre à Massabla la prévalence parasitologique est nulle sur les échantillons examinés par les deux méthodes parasitologiques de référence.

**Tableau n° II**

Taux de positivité de la bilharziose des différents tests biologiques en zone endémique (Siguivouce) avant le traitement

Tests	P
Filtration	82
Kato	38
SCAA	78
SCCA	55
UCAA	74
UCCA	90

nombre total d'échantillons examinés = 228

P = prévalence en %

La technique de détection UCCA nous montre le taux de positivité le plus élevé avec 90%.

**Tableau n° III**

Distribution de l'infestation bilharzienne en fonction de la catégorie d'âge à Siguivouce à l'enquête initiale selon les différents tests biologiques.

Agés en année	0-6	7-14	15-24	25-44	45+
Tests diagnostic					
Filtration	8	30	17	14	11
Kato	2	18	11	10	7
SCAA	6	28	16	17	9
SCCA	2	24	12	11	5
UCCA	7	28	15	15	8
UCCA	9	28	15	22	12

Nombre total d'échantillons examinés = 228

Nous constatons que la tranche d'âge 7-14 ans a le taux de prévalence le plus élevé pour tous les tests.

**Tableau n° IV**

Distribution du taux de positivité (%) de la Bilharziose selon les différents tests biologiques en fonction du sexe à l'enquête initiale à Siguivouce

Sexe \ Tests diagnostic	Masculin	Fémini	p
filtration	37	45	<b>ns</b>
Kato	18	20	<b>ns</b>
SCAA	37	45	<b>ns</b>
SCCA	24	31	<b>ns</b>
UCAA	34	41	<b>ns</b>
UCCA	38	52	<b>s</b>

La filtration et SCAA donne les mêmes prévalences selon les sexes

Nombre total d'échantillons examinés = 228

ns = la différence n'est pas significative

s = différence significative

**Tableau n° V**

Intensité de la bilharziose par la moyenne géométrique en terme de nombre d'oeufs émis pour les tests parasitologiques et en titre de positivité des antigènes circulants dans la zone de Siguivouce avant traitement en fonction des différents tests biologiques.

Tests	Intensité
Filtration	33
Kato	90
SCAA	263
SCCA	19
UCAA	18
UCCA	211

L'intensité I est la moyenne géométrique du nombre des oeufs ou des titres de positivité des tests immunologiques.

Nombre total des échantillons examinés = 228

Pour les tests parasitologiques la moyenne géométrique du nombre des oeufs est respectivement de 33 pour la filtration urinaire et 90 pour le Kato. Pour les tests immunologiques, UCAA et UCCA donnent les titres les plus élevés en moyenne 263 et 211.

**Tableau n° VI**

Intensité de la Bilharziose en terme de nombre d'oeufs émis et en titre de positivité des tests de détection des antigènes circulants en fonction des différents tests biologiques selon la catégorie d'âge à l'enquête initiale à Siguivouce.

Ages en année	0- 6	7 - 14	15 - 24	25-44	45+
Tests diagnostic					
filtration	60	70	19	7	5
Kato	105	107	100	59	88
SCAA	100	1725	362	47	38
SCCA	13	24	21	20	13
UCAA	12	35	17	4	6
UCCA	20	232	328	202	134

Nombre total des échantillons examinés = 228

L'intensité la plus élevée est obtenue avec le SCAA et à tous les âges. Les individus ayant de 7 à 14 ans sont les plus infestés et cela pour tous les tests sauf par la technique UCCA où les individus ayant de 15 à 24 ont une intensité plus élevée.

### 5-1-2 Massabla

**Tableau n° VII**

Le taux de positivité de la bilharziose en zone non endémique (Massabla) selon les différents tests biologiques avant le traitement.

Tests	P
Filtration	0
Kato	0
SCAA	8
UCAA	3

P = prévalence en %

Nombre total d'échantillons examinés = 39

La technique de détection de SCAA montre la prévalence la plus élevée .

## 5-2 - Résultats analytiques:

### 5-2-1 Siguivoucé

Nous voulons évaluer les tests de détection des antigènes circulants par rapport aux tests standards : filtration des urines et kato-katz.

Cette évaluation consistera à donner la sensibilité, la spécificité des techniques .

Le principe de calcul est le suivant lorsque l'on compare un test B à un test A considéré comme référence

Test B \ Test A	Positif	Négatif	Total
Positif	a	c	a+c
Négatif	b	d	b+d
Total	a+b	c+d	a+b+c+d

Sensibilité (S) =  $a / a+b$

Spécificité (SP) =  $d / c+d$

Valeurs prédictives positives (VPP) =  $a / a+c$

Valeurs prédictives négatives (VPN) =  $d / b+d$

a = nombre de vrais positifs

d = nombre de vrais négatifs

c = nombre de faux positifs pour le Test A

b = nombre de faux négatifs pour le Test A

### Tableau n° VIII

Spécificité, sensibilité, et les valeurs prédictives positives et négatives (en %) des tests de détection des antigènes circulants par rapport à la filtration à Siguivoucé à l'enquête initiale.

Tests Sérologiques	Spécificité	Sensibilité	V P P	V P N
SCAA	35	82	85	29
SCCA	63	59	88	25
UCAA	43	78	86	30
UCCA	23	92	85	39

Dans le cas des infections à *S. haematobium* la sensibilité des tests immunologiques est bonne où l'UCCA donne la plus grande sensibilité avec 92 % . Le SCAA est le plus sensible avec 82 % . Les tests immunologiques détectent les vrais positifs à plus de 80 %

**Tableau n° IX**

Spécificité, sensibilité, et les valeurs prédictives positives et négatives des tests de détection des antigènes circulants par rapport au kato à Siguivouce à l'enquête initiale.

Tests Sérologiques	Spécificité	Sensibilité	V P P	V PN
SCAA	27	87	42	77
SCCA	54	70	48	74
UCAA	88	34	45	82
UCCA	14	95	40	83

Dans le cas des infections à *S. mansoni* l'UCAA est le plus spécifique, les meilleurs sensibilités sont obtenues avec UCCA 95 % et le SCAA 87 %. Les négatifs sont détectés à plus de 70 %.

Nous avons examinés nos résultats dans le temps à 6 semaines et a 1 an après le traitement au praziquantel. Cette analyse a été effectuée sur 32 individus qui ont participé à toute les phases de notre enquête. Nous avons obtenu les résultats suivants:

**Tableau n° X**

Le Taux de positivité de la Bilharziose dans le village de siguivoucé avant, 6 semaines et 1 an après traitement selon les tests biologiques.

Prévalence Tests diagnostic	Pévalence(P) en fonction du temps en %		
	P (n0) à t0	P (n0) à t1	P (n0) à t2
Filtration urinaire	75 (24)	6 (2)	16 (5)
Kato	69 (22)	6 (2)	6 (2)
SCAA	91 (29)	56 (18)	19 (6)
SCCA	59 (19)	16 (5)	3 (1)
UCAA	78 (25)	22 (7)	41 (13)
UCCA	100 (32)	78(25)	50 (16)

Nombre total des échantillons examinés = 32

n0 = nombre de cas positif

t2 = 1 an après le traitement.

P = prévalence de l'infection

t0 = Enquête initiale

t1 = 6 semaine après le traitement

Le taux de prévalence des schistosomiasis est de 75 % et 69 % respectivement pour *S. haematobium* et *S. mansoni* au temps t1 et au temps t2 elle est de 6 % pour les deux.

La technique UCCA montre le taux de prévalence de 100% à t1.

Nous constatons:

6 semaines après le traitement un taux de prévalence de 78% par la technique UCCA et 6% par les méthodes de référence. Un an après le traitement la prévalence est égale à 50% par la méthode UCCA alors qu'elle est de 16% et 6% respectivement par la filtration et le Kato.

**Tableau n° XI**

Intensité de la Bilharziose à Siguivouce avant , 6 semaines et 1 an après traitement

Tests diagnostic	Intensité (I) en fonction du temps		
	I (n 0) à t0	I (n0) à t1	I (n0) à t2
Filtration	8 (24)	1 (2)	2 (5)
Kato	64 (22)	24 (2)	34 (2)
SCAA	128 (29)	14 (18)	11 (6)
SCCA	15 (19)	8 (5)	4 (1)
UCAA	10 (25)	2 (7)	43 (13)
UCCA	170 (32)	184 (25)	16 (16)

I = Moyenne géométrique du nombre des oeufs émis ou titre / personne

n0 = nombre de cas positifs

Nombre total des échantillons examinés = 32

Pour tous les tests nous constatons une diminution de l'intensité à 6 semaines après le traitement puis une légère augmentation à 1 an après le traitement , sauf le cas de SCAA, SCCA, UCCA où nous constatons une diminution progressive.

## 2-2 Efficacité du traitement au praziquantel à Siguivoucé

Nous avons examiné l'efficacité du traitement au praziquantel qui est l'antibilharzien le plus utilisé au Mali.

**Tableau n° XII**

Le taux de réduction de la prévalence à 6 semaines puis à 1 an après le traitement à Siguivoucé des différents tests biologiques.

Tests \ Temps	T à t1	T à t2
Filtration	92	79
Kato	91	91
SCAA	38	79
SCCA	73	95
UCAA	72	47
UCCA	22	50

t0 = avant traitement

t1 = 6 semaines après le traitement

t2 = 1 an après le traitement

Taux de réduction de la prévalence (T) =  $P \text{ à } t_0 - P \text{ à } t_1(\text{ou à } t_2) / P \text{ à } t_0$

P = Prévalence

Nous constatons que la filtration, le Kato montrent le taux de réduction de la prévalence le plus élevé à t1 et à t2

**Tableau N° XIII**

Les valeurs prédictives positives et négatives avant, 6 semaines et un an après le traitement à Siguivoucé par rapport à la filtration.

Tests	T0		T1		T2	
	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN
SCAA	85	29	11	100	33	92
SCCA	88	25	20	96	0	83
UCAA	86	30	0	92	17	90
UCCA	85	39	4	87	27	100

Le test UCCA se montre le plus sensible avec la meilleure VPN=100% 1 an après traitement.

**Tableau n° XIV**

Les valeurs prédictives positives et négatives avant, 6 semaines et 1 an après le traitement à Siguivoucé par rapport au Kato

Tests	T0		T1		T2	
	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN
SCAA	42	77	11	100	0	92
SCCA	48	74	0	92	100	97
UCAA	45	82	0	92	8	95
UCCA	40	83	8	100	12	100

Ici également UCCA se montre comme le test le plus sensible

La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives sont nulles à Massabla car la prévalence parasitologique est nulle.

**Tableau n° XV**

Comparaison de la positivité du test UCCA à Siguivoucé selon le sexe

Sexe \ UCCA	Positif	Négatif	Total
Masculin	76	21	97
Féminin	117	11	128
Total	193	32	225

$$P < 0,001$$

La différence est statistiquement significative

Le taux de Positivité est plus élevé chez les femmes que chez les hommes.

Aucune différence significative n'a été trouvée entre sexe pour le reste des tests biologiques et chacun des tests pris deux à deux.

**Tableau n° XVI**

Comparaison de la positivité entre la filtration urinaire et le SCAA avant traitement à siguivouvé

Filtration \ SCAA	Positif	Négatif	Total
Positif	151	26	177
Négatif	34	14	48
Total	185	40	225

$$X^2 = 5,41 \quad P < 0,01$$

$$VPP = 85 \% , \quad VPN = 29 \% \quad S = 82 \% \quad Sp = 35 \%$$

Le SCAA détecte 26 cas positifs qui sont négatifs par la filtration.

34 cas négatifs par SCAA sont positifs par la filtration.

Une différence statistiquement significative existe entre la filtration et SCAA.

VPP = Valeur prédictive positive

VPN = Valeur prédictive négative

S = Sensibilité

Sp = Spécificité

**Tableau n° - XVII**

Comparaison du taux de positivité entre la filtration et SCCA avant traitement à Siguivoucé

Filtration \ SCCA	Positif	Négatif	Total
Positif	109	15	124
Négatif	76	25	101
Total	185	40	225

$$X^2 = 6,10 \quad P < 0,01$$

$$VPP = 88 \% \quad VPN = 25 \% \quad S = 59 \% \quad Sp = 63 \%$$

109 cas sont positifs aussi bien pour la filtration que pour la technique SCCA, le SCCA détecte 15 cas positifs de plus, qui sont négatifs par la filtration. La différence est statistiquement significative.

**Tableau n° - XVIII.**

Comparaison du taux de positivité entre la filtration et l'UCAA avant le traitement à Siguivoucé

Filtration \ UCAA	Positif	Négatif	Total
Positif	145	23	168
Négatif	40	17	57
Total	185	40	225

$$X^2 = 7,58 \quad P < 0,005$$

$$VPP = 86 \% \quad VPN = 30 \% \quad S = 78 \% \quad Sp = 43 \%$$

Avant le traitement 145 cas sont positifs aussi bien pour la filtration que pour UCAA . L'UCAA détecte 23 cas positifs qui sont négatifs par la filtration. La différence est statistiquement significative entre les deux tests.

**Tableau n° XIX**

Comparaison du taux de positivité entre la filtration et l'UCCA avant le traitement

Filtration \ UCCA	Positif	Négatif	Total
Positif	171	31	202
Négatif	14	9	23
Total	185	40	225

$P < 0,008$  (Fisher) . La différence est statistiquement significative

$$VPP = 85 \% \quad VPN = 39 \% \quad S = 92 \% \quad Sp = 23 \%$$

171 cas sont positifs aussi bien pour la filtration que pour UCCA avant le traitement . Cependant UCCA détecte 31 cas positifs qui sont négatifs par la filtration

**Tableau n° XX.**

Comparaison du taux de positivité entre le Kato -Katz et le SCAA avant le traitement à Siguivouce

Kato \ SCAA	Positif	Négatif	Total
Positif	75	102	177
Négatif	11	37	48
Total	86	139	225

$X^2 = 6,05$   $P < 0,01$ . La différence est statistiquement significative.

VPP = 42 %    VPN = 77 %    S = 87 %    Sp = 27 %

75 cas sont positifs aussi bien pour le Kato que pour le SCAA ,avant le traitement. Cependant le SCAA détecte 102 cas positif qui sont négatifs par le Kato.

**Tableau n° XXI**

Comparaison du taux de positivité entre le Kato -Kartz et le SCCA avant le traitement à Siguivoucé

Kato \ SCCA	Positif	Négatif	Total
Positif	60	64	124
Négatif	26	75	101
Total	86	139	225

$X^2 = 12,09$   $P < 0,0005$  . La différence est statistiquement significative

VPP = 48 %                  VPN = 74 %                  S = 70 %    Sp = 54 %.

60 cas sont positifs aussi bien pour le Kato que pour SCCA , cependant SCCA détecte 64 cas positif qui sont négatifs par le Kato - Katz

**Tableau n° XXII.**

Comparaison du taux de positivité entre le Kato-Kartz et l'UCAA avant le traitement à Siguivoucé

UCAA \ Kato	Positif	Négatif	Total
Positif	76	92	168
Négatif	10	47	57
Total	86	139	225

$X^2 = 13,82$   $P < 0,0002$ . La différence est statistiquement significative.

VPP = 45 %      VPN = 82 %      S = 88 %      Sp = 34 %

A l'enquête initiale 76 cas sont positifs aussi bien pour le Kato que pour UCAA . UCAA détecte 92 cas positifs qui sont négatifs par le Kato .

**Tableau n° XXIII**

Comparaison du taux de positivité entre le Kato-Kartz et la techniqueUCCA avant le traitement à Siguivoucé.

UCCA \ Kat	Positif	Négatif	Total
Positif	82	120	202
Négatif	4	19	23
Total	86	139	225

$X^2 = 4,71$   $P < 0,03$ . LA différence est statistiquement significative.

VPP = 40 %      VPN = 83 %      S = 95 %      Sp = 14 %

82 cas sont positifs aussi bien pour le Kato que pour l'UCCA avant le traitement, 120 cas négatifs par le Kato sont positifs par l' UCCA.

**2-3 Massabla****Tableau n° XXIV.**

L taux de positivité de la schistosomiase à Massabla avant (t0) 6 semaines (t1) et 1 an après (t2) traitement.

Tests diagnostic	Pévalence( P ) en fonction du temps en %		
	P (n0) à t0	P (n0 ) à t1	P (n0 ) à t2
Filtration	0 ( 0 )	0 ( 0 )	0 ( 0 )
Kato	0 ( 0 )	0 ( 0 )	0 ( 0 )
SCAA	8 ( 3 )	3 ( 1 )	8 ( 3 )
UCAA	3 ( 1 )	3 ( 1 )	3 ( 1 )

Nombre total des échantillons examinés = 39

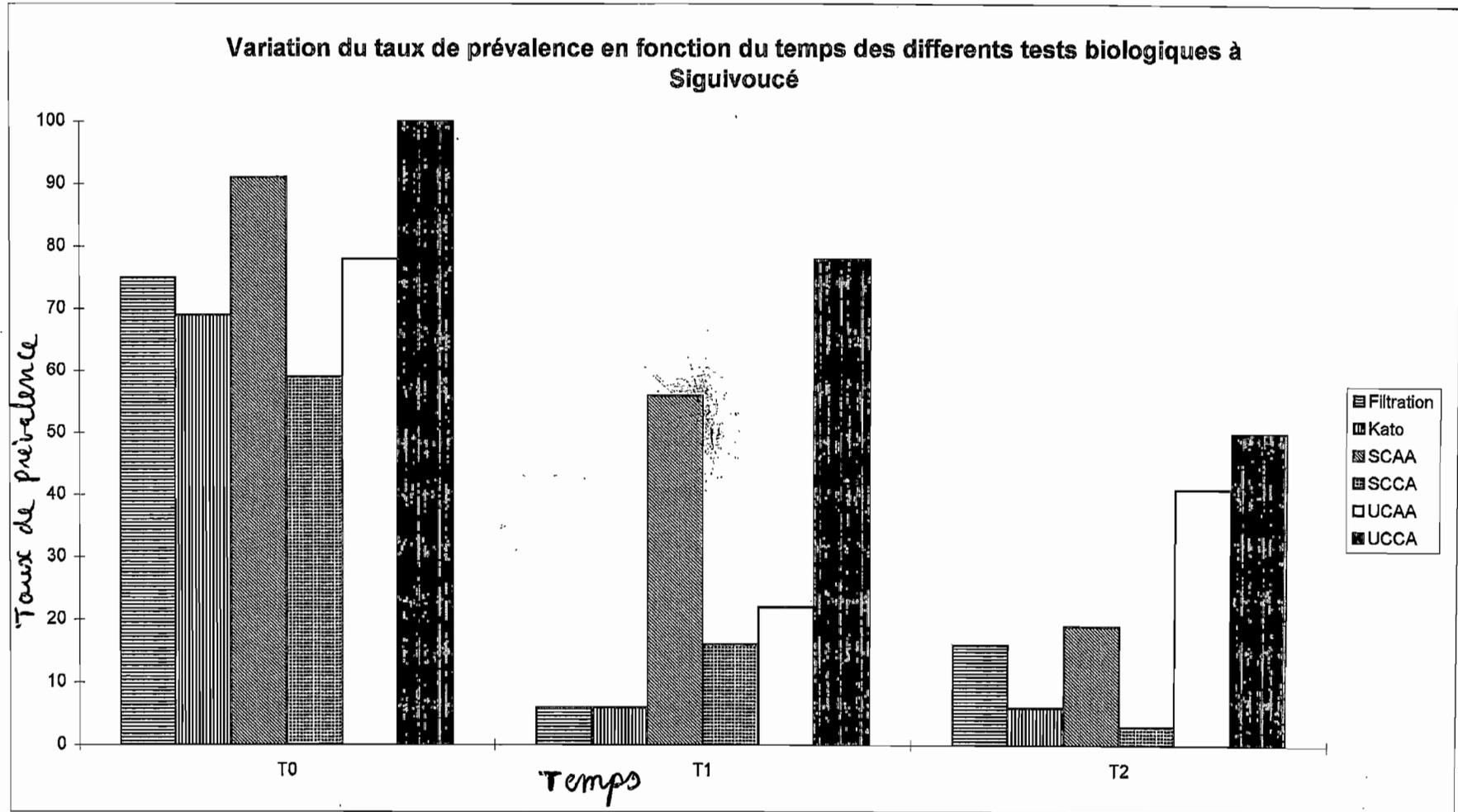
n0 nombre de cas positif

A massabla, la prévalence parasitologique est nulle à tous les temps .

Le taux de prévalence est de 8 % et 3 % par la technique SCAA et UCAA respectivement au temps t0 , 3 % au temps t1 puis 8 % et 3 % au temps t2.

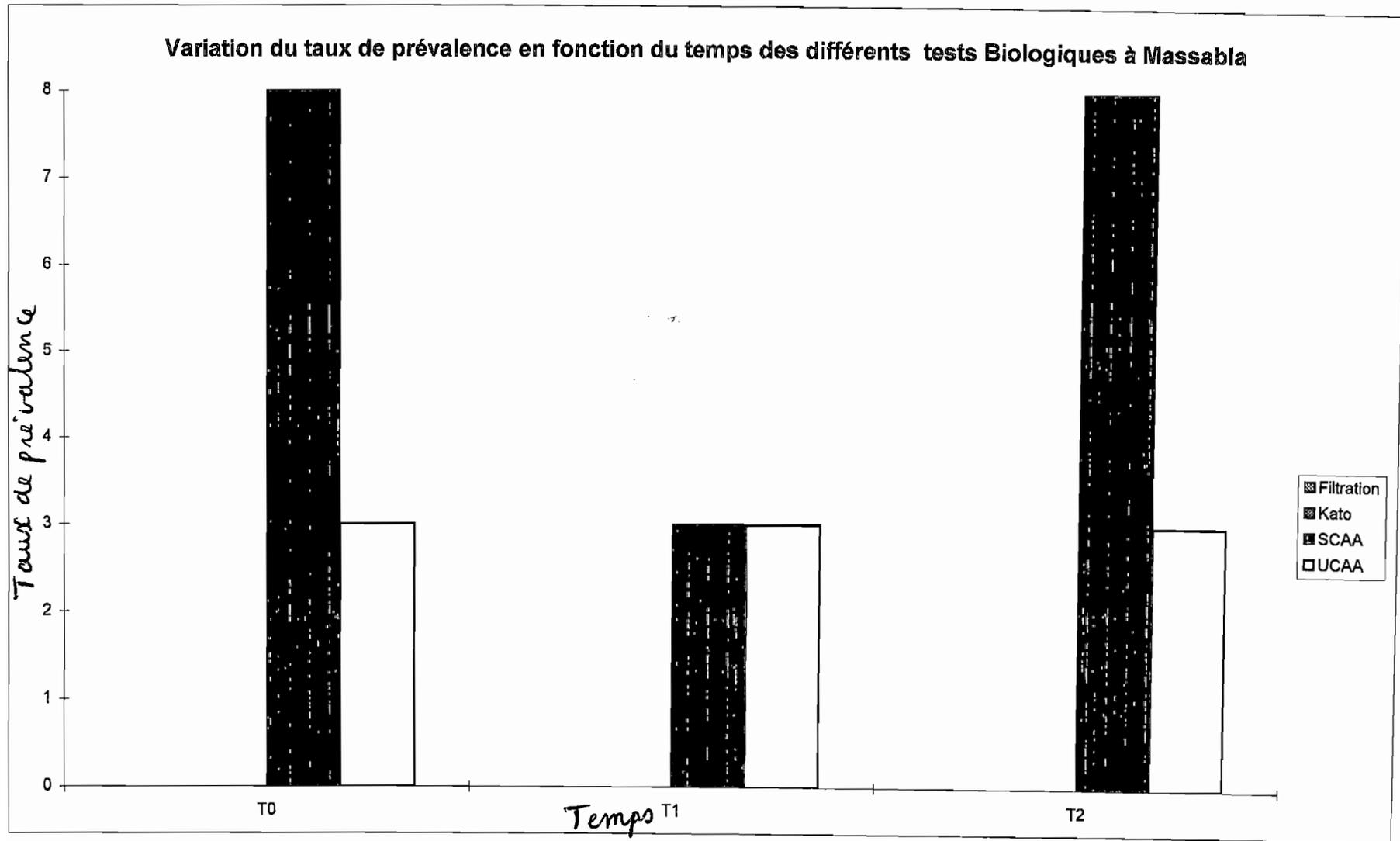
Il n'y a pas de résultats positifs concordants entre les tests parasitologiques et immunologiques à Massabla.

FIG. 1



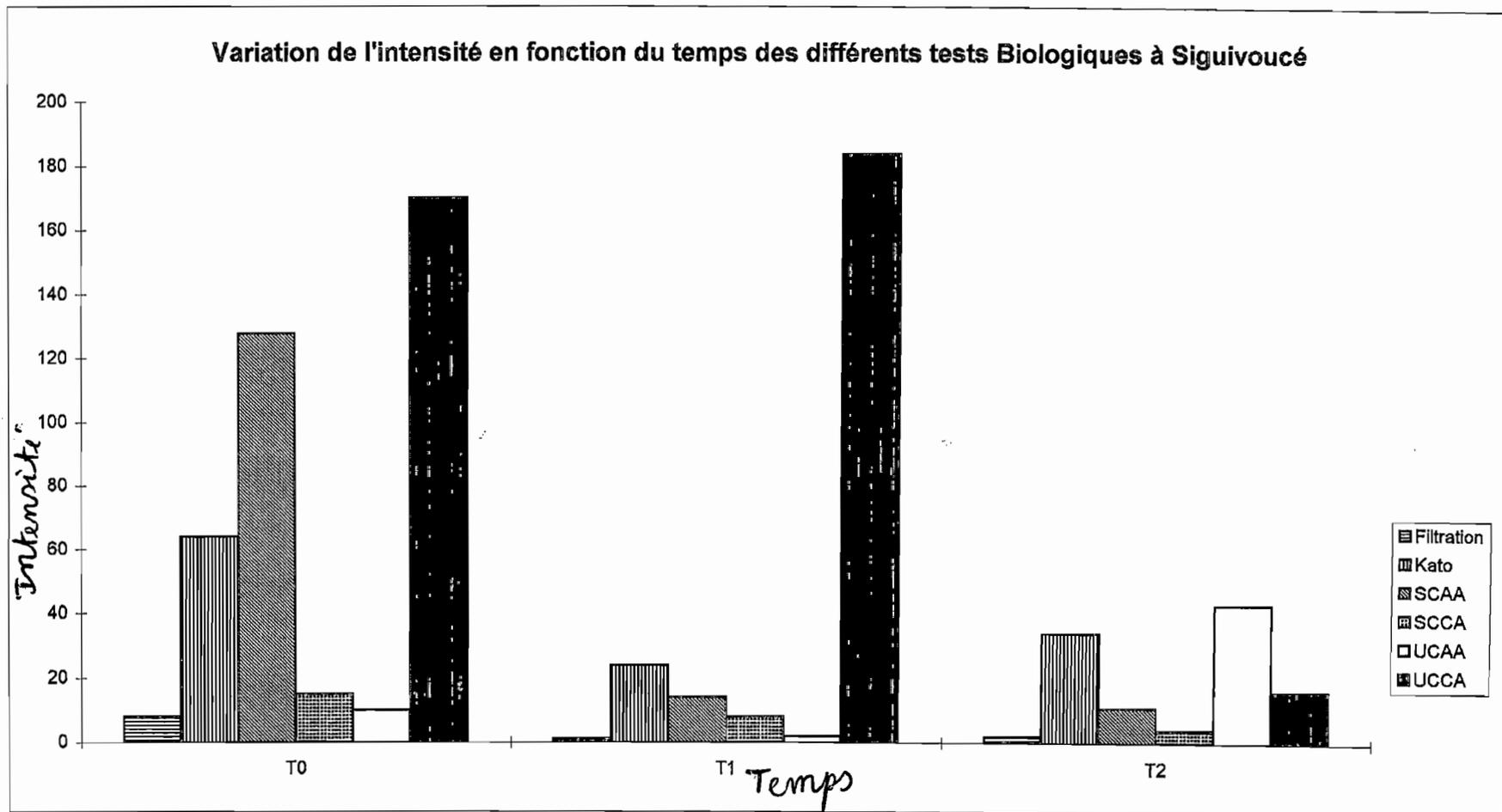
Nous constatons une diminution du taux de prévalence à tous les temps sauf pour la filtration et UCAA où une augmentation à t2

FIG.1



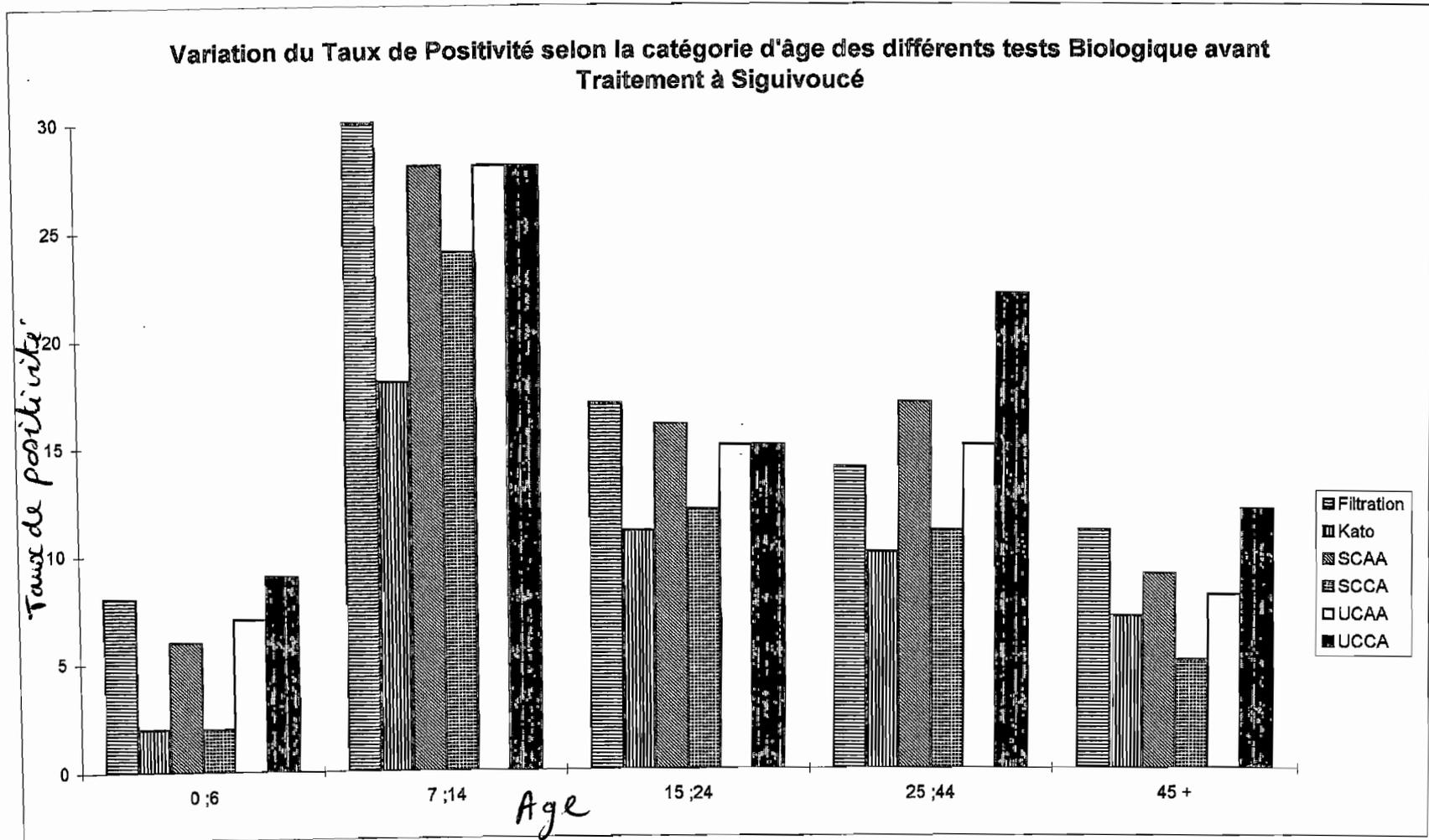
Nous constatons que le taux de prévalence parasitologique est nul à Massabla, SCAA diminue à t1 puis augmente à t2

**FIG.2**



Nous constatons une diminution de l'intensité à 6 semaines après le traitement puis une légère augmentation à un an après le traitement, sauf le cas de SCAA, SCCA, UCCA où nous constatons une diminution progressive

FIG.3



Nous constatons que la tranche d'âge de 7 - 14 ans a le taux de prévalence le plus élevé pour tous les tests,

**FIG.4**

# **6 - Commentaires et Discussions**

## **6 - Commentaires et Discussions**

Du 18 Novembre 1993 au 23 Décembre 1996 nous avons effectué une étude comparative des différentes techniques de diagnostic biologique des schistosomiasés en zone d'endémie (infection mixte) et en zone non endémique.

Notre objectif était de savoir si les méthodes de détection des antigènes circulants des schistosomes par la technique ELISA était applicable sur le terrain d'une part, et d'autre part si ces méthodes pouvaient avoir un avantage sur les méthodes classiques de mise en évidence des oeufs du parasite.

C'est dans cette même perspective que nous avons suivi le traitement par le praziquantel afin d'identifier la méthode de diagnostic la mieux appropriée pour le suivi de l'efficacité du traitement.

Les techniques parasitologiques ont été prises comme référence, car utilisées dans les programmes de lutte contre les schistosomiasés [51]

Les techniques parasitologiques utilisées ont été le Kato-Katz pour la schistosomiasé à *S. mansoni*, la filtration pour la schistosomiasé à *S. haematobium*.

### **6-1- Le taux de Prévalence:**

#### **6-1-1- Le taux de prévalence parasitologique:**

Le taux de prévalence de la schistosomiasé à *S. haematobium* est de 82 % et 38 % pour *S. mansoni* dans le village de Siguivoucé. Par contre elles sont nulles dans le village de Massabla. Les deux zones sont très différents du point de vue de leur situation géographique et de la focalisation de la bilharziose au Mali. [62, 83]. Siguivoucé est situé au bord du canal d'irrigation de l'office du Niger et Massabla n'est pas situé au bord d'un cours d'eau permanent.

Nous constatons que le taux de prévalence de *S. haematobium* est plus élevée que celle de *S. mansoni* à Siguivoucé. Dans la zone de O.N au Mali ont trouvé que le taux de prévalence de *S. mansoni* est plus élevé que celle de *S. haematobium*. [29,40]

En effet *Biomphalaria pfeifferi* est plus abondant pendant la saison froide, saison à la quelle a eu lieu notre enquête. En ce moment des travaux de nettoyage ont porté sur canal qui ont beaucoup contribué à la recolonisation des hôtes intermédiaires.

#### **6-1-2 - Le taux de prévalence des antigènes circulants:**

Le taux de positivité des antigènes circulants est de 78 % par la technique de détection de SCAA, 55 % par celle de détection de SCCA, 74 % par la technique UCAA, et 90 % par la technique UCCA.

Il est intéressant de noter que malgré le taux de prévalence parasitologique nulle à Massabla, nous avons 8 % par la technique de SCAA, et 3 % par celle de UCAA. La zone de Massabla est une Zone non endémique par les techniques parasitologiques et hypoendémique par les techniques immunologiques.

L'UCCA montre le taux de prévalence le plus élevé dans la zone de Siguivoucé (zone endémique). Au paravent cette prévalence n'avait pas été étudiée au Mali. Notre étude a succédé à l'enquête sur le taux de prévalence de SCAA sur le Plateau dogon. Des résultats différents avaient été obtenus d'un village à l'autre même si ces villages n'ont pas de différence entre eux par rapport à leur position géographique et la proximité d'une retenue d'eau.

La plupart des retenues d'eau sur le Plateau Dogon sont constituées par des petits barrages dont le bassin tarit en Mai. Il s'agit donc de transmission saisonnière au plateau dogon.[9]. Au Cameroun dans une zone semblable à l'O.N (infection mixte), une étude longitudinale chez 148 enfants, montre un taux de prévalence de 76 % et 64 % par les techniques de SCAA et UCAA respectivement. Les niveaux de CAA étaient en corrélation avec le nombre des oeufs émis [17]. Ces résultats sont comparables à nos résultats et dans la zone du plateau dogon.

Deelder et Al en 1994 démontre que CCA avait un niveau de détection bas dans le cas des infections à *S.haematobium*. Par contre nous avons trouvé que le niveau de détection de CCA dans l'urine et dans le sérum était plus élevé, la même chose a été trouvée par Kriger et al 1994. Cette différence du taux de Prévalence pourrait être liée au fait que notre étude s'est déroulée dans une zone à infection mixte.

Il semble que les anticorps du test ELISA se lient bien aux antigènes CAA produit par *S.haematobium* mais que la sensibilité n'est pas assez élevée parce que la concentration en CAA dans l'urine est trop faible.

Djémila en 1994 sur une étude réalisée à l'école de Baco-Djicoronie a trouvé que le taux de prévalence selon la méthode de détection de CCA dans l'urine était de 38,9 %, et 61,1 % par la méthode parasitologique. Elle n'a pas trouvé de corrélation entre le nombre des oeufs émis et le titre de CCA dans l'urine.

D'après ces résultats elle trouve que le test CCA sur urine n'est pas la méthode de diagnostic optimale dans le cas d'une infestation à *S.haematobium*.

Dans une étude réalisée à l'O.N uniquement sur des individus ayant une infection à *S.haematobium*, sur 31 échantillons elle trouve que 9 cas négatifs par la technique parasitologique étaient positifs par la technique de détection de UCCA, il n'y avait pas toujours de corrélation entre le nombre des oeufs émis et le titre des antigènes UCCA; cela est conforme aux résultats de Deelder en 1994.

Dans le village de Massabla , c'est la technique de détection de SCAA qui montre le taux de positivité le plus élevé avec 8 %.

Van Lieshout 1995 dans une zone moins endémique trouve que les techniques de détection de CCA et CAA montrent, 17 % et 23 % dans le sérum, par contre dans l'urine on a 3 % et 28 % respectivement pour CAA et CCA.

Il démontre que les techniques de détection de UCCA et SCAA, plus de l'examen parasitologique permettent de déterminer le taux de prévalence et l'intensité dans une zone moins endémique.

La répartition du taux de prévalence selon la catégorie d'âge montre pour tous les tests , une prévalence élevée chez les individus de 7 à 14 ans et sont de l'ordre de 18 % à 30 % pour le Kato et la filtration respectivement.

La différence du taux de prévalence selon le sexe n'est pas statistiquement significative bien qu'on observe, que les femmes sont légèrement plus infectées que les hommes.

La technique de détection de SCAA et la technique de filtration montrent 37 % pour les hommes et 45 % pour les femmes.

Les femmes et les hommes mènent tous des activités centrées autour de l'eau ( maraîchage, lessive, confection de brique en terre...)

La technique de détection de UCCA nous donne le taux de prévalence le plus élevé chez les femmes et chez les hommes: 52 % et 38 % respectivement. Cette différence est statistiquement significative.

Doucouré en 1989 par la méthode ELISA , en recherchant les anticorps , n'a pas trouvé de différence de prévalence selon le sexe. Il a trouvé que les jeunes de 6 à 19 ans sont les plus touchés que les adultes de plus de 19 ans , de même que Sissoko 1995 et Karambiri 1980.

### **6-1-3- Intensité:**

La plus forte intensité de l'infestation est observée chez les individus de 7 à 14 ans, et cela pour tous les tests dans le village de Siguivoucé. Cela est conforme aux résultats de Traoré 1994 et Diarra en 1990 par les méthodes parasitologiques dans la même zone(O.N).

Les antigènes circulants : La technique SCCA montre que l'intensité la plus élevée est observée chez les enfants de 7 à 14 ans avec un titre de positivité de 1725 exprimé par la moyenne géométrique. Les enfants de 7 à 14 ans sont les enfants en âge de scolarisation qui aiment beaucoup jouer dans l'eau , ils sont utilisés dans les activités de jardinage, cela pourrait donc expliquer le taux de prévalence élevé et la forte intensité de l'infestation dans cette tranche d'âge.

### **6-2- Résultats analytiques:**

La sensibilité de SCAA est de 82 %, 59 % par SCCA , 78 % par UCAA, et 92 % par UCCA, cela par rapport à la filtration.

Par rapport au Kato, la sensibilité est de 87 % par SCAA, 70 % par SCCA, 88 % par UCAA,

et 95 % par UCCA. La forte sensibilité est obtenue par la technique de détection de UCCA et cela aussi bien par rapport à la filtration que par rapport au Kato avec 92 % et 95 % respectivement.

Nous constatons que la sensibilité des tests immunologiques par rapport au Kato est plus élevée que celle des tests immunologiques par rapport à la filtration. Donc les tests immunologiques ont tendance à détecter les infections par *S. mansoni*.

Dans une zone à infection mixte, des individus atteints uniquement de *S. haematobium* la sensibilité était de 97 % par CCA-ELISA, ce qui est plus élevée que notre résultat [22].

La même année dans les urines de 33 patients ayant une infection à *S. haematobium*, ils détectent CAA chez 97 % des patients. Ils trouvent que CCA était généralement non détecté dans l'urine de 89 % des patients ayant une infection à *S. mansoni*. Ceci est contraire à nos résultats où nous avons trouvé que UCAA était le plus sensible.

Ils n'ont pas trouvé de corrélation significative entre le titre de CAA avec le nombre des oeufs émis dans l'urine dans une infection à *S. haematobium*. [22]

Dans la zone de l'O.N, Djemila en 1994 chez des individus ayant une schistosomiase a *S. haematobium* a trouvé une sensibilité de 89 % par la technique UCCA ce qui est comparable à nos résultats.

Bien que de bons résultats aient été obtenus avec CCA-ELISA dans l'urine avec *S. mansoni* [75] et *S. intercalatum* [42], l'application de ce test dans les infections à *S. haematobium* est controversée [22,42].

Nous avons trouvé par rapport à la filtration, la sensibilité de 100 %: par la technique SCAA à 6 semaines après le traitement, et 1 an après le traitement par UCCA. Par rapport au Kato, la sensibilité de 100 % est obtenue: 1 an après le traitement par UCCA, 6 semaines après le traitement par SCAA et UCCA.

L'UCCA est le test le plus sensible mais le moins spécifique. Par contre c'est le SCCA qui est le plus spécifique mais le moins sensible. L'association de UCCA et SCCA pourrait donner de meilleurs résultats.

Par rapport au Kato les VPN sont les plus élevées avec UCCA avec 83 % pour UCCA la plus élevée et 74 % pour SCAA la plus faible.

Par rapport à la filtration, ce sont les VPP qui sont les plus élevées et sont de l'ordre de 85 % à 88 % pour UCCA et SCCA respectivement.

Van Lieshout et Al 1992 détectent l'antigène CCA dans 78 % des urines des personnes atteintes de *S. mansoni* et d'infections mixtes. En plus ils trouvent une corrélation entre le titre sérologique et le nombre des oeufs émis.

Plusieurs études ont montré l'importance de la détection des antigènes circulants comme moyen alternatif pour le diagnostic des schistosomiases et surtout pour la détermination de la vraie prévalence et l'évaluation de l'efficacité du traitement médicamenteux. Cependant la plupart de ces études ont porté sur *S. mansoni* et dans quelque cas sur *S. haematobium*.

Il s'agit entre autre :

- De jonge 1989 ont démontré l'importance des techniques de détection de CAA et CCA dans l'urine pour la bilharziose intestinale dans le cadre du test immunodiagnostic, moins traumatisant.

- Van Lieshout et al : 1991, 1993, 1994 qui ont démontré l'importance de CAA et CCA dans l'évaluation de l'efficacité du traitement ,et leur utilisation dans le suivi. Kriger et al 1994 ont montré que la concentration de CAA dans l'urine est relativement inférieure à la concentration de CCA dans les urines.
- Polman et al 1995 au Sénégal dans une étude à foyer de *S.mansoni* ont observé une prévalence élevée une grande sensibilité de UCCA.
- Kreamsner et al 1994 trouvent dans le sérum que CAA était plus détecté que CCA. Par contre dans l'urine CCA était plus détecté que CAA.
- Agnew et al 1993 démontrent une meilleure corrélation entre le niveau de CAA et la charge parasitaire de *S.haematobium* et *S.mansoni*.
- Deelder et al 1994 démontrent que la corrélation était basse entre le titre des antigènes et le nombre des oeufs émis dans la schistosomiase à *S.mansoni*.
- De jonge et al 1988 démontrent une corrélation entre le niveau de CAA et CCA dans l'urine et dans le sérum avec l'intensité de l'infestation mesurée par le nombre des oeufs émis.
- Van lieshout et al « observations non publiée » démontrent que dans une zone de faible intensité au Surinam, l'association entre le test parasitologique et sérologique pose plus le diagnostic de la schistosomiase à *S.mansoni*.
- Van Lieshout et al « soumis à la publication » dans deux zones endémiques démontrent que les niveaux de SCAA et SCCA étaient liés directement au nombre de parasite.
- Van Dam et al 1996 démontrent que dans les fortes infections chez les souris CCA était le premier antigène détectable avant la troisième semaine de l'infection.
- Feldmeir et al 1986 démontrent que la corrélation des antigènes avec le nombre de ver adultes de *S.mansoni* était élevée chez les patients ayant une splénomégalie.

Le test ELISA sur urine est un bon test dans le cas du diagnostic des infections à *S.mansoni* [22, 20, 31].

Au total les tests de détection des antigènes circulants dans les urines sont plus sensible et moins traumatisant pour le malade. Le fort taux de prévalence des antigènes circulants dans la zone endémique pourrait être due à la faible sensibilité des techniques parasitologiques, aux fluctuations journalières de l'émission d'oeufs. L' O.N est une zone de transmission permanente.

Dans la zone nonendémique notamment à Massabla , la forte prévalence de SCAA est due à la grande sensibilité des tests de détection des antigènes circulants, qui détectent les infestations dès que le ver adulte est présent dans l'organisme. En plus Massabla est une zone considérée comme non endémique .

Les tests de détection des antigènes circulants sont spécifiques du genre *Schistosoma* et non de l'espèce, car quelque soit l'infestation ( soit de *S.haematobium* ou de *S.mansoni*) ; les antigènes circulants sont détectés soit dans l'urine ou dans le sérum. En plus aucune réaction croisée n'existe avec d'autres espèces. Les faibles spécificités observées dans nos résultats sont dues surtout à la limite de sensibilité des tests de références utilisés.

Les positifs des tests immunologiques sont considérés comme des faux positifs qui en fait doivent être des vrais positifs. Cependant bien que les antigènes circulants sont spécifiques du genre *Schistosoma*, ils ne peuvent pas faire la différence entre les espèces de *Shistosome*.

### **6-3 - Efficacité du traitement au praziquantel:**

L'intensité de l'infestation des shistosomiasés étant en corrélation avec la morbidité, il est nécessaire de traiter les patients. [51, 41].

Nous avons calculé le taux de réduction de la prévalence et la réduction de l'intensité à partir des individus ayant participé à toutes les étapes de l'enquête et à tous les tests.

Dans le village de Siguivoucé:

Le taux de réduction de la prévalence de *S.haematobium* est de 92 % au temps t1, et 79 % à t2.

Pour *S.mansoni* le taux de réduction de la prévalence est de 91 % à t1 et t2.

Par SCAA on a 38 % et 79 % à t1 et t2, par SCCA on a 73 % et 95 % à t1 et t2, par UCAA on a 72 % et 47 % et par UCCA on a 22 % et 50 %.

Pour tous les tests immunologiques nous constatons une augmentation du taux de réduction de la prévalence au temps t2 sauf pour l' UCCA.

Les taux de réduction de la prévalence des tests parasitologiques sont plus élevés que ceux des tests de détection des antigènes circulants. Il y a donc une surestimation du taux de réduction du taux de la prévalence par les méthodes parasitologiques comme cela a été mentionné par d'autres auteurs [9, 26, 27].

Dans la zone de Siguivoucé nous avons eu les mêmes résultats.

Dans la zone de Massabla le taux de réduction de la prévalence est nulle pour les différents tests biologiques sauf pour SCAA pour SCAA ou une réduction de 62,5 % à t1 et puis 0 % à t2.

A Massabla les résultats sont difficilement interprétables du fait de la petite taille des échantillons étudiés due un problème de réactif.

Cette surestimation du taux de réduction de la prévalence serait due probablement à :

- la faible sensibilité des tests parasitologiques,
- la variation journalière de la ponte des oeufs,
- la plus grande stabilité des antigènes.

La réduction du taux de prévalence 1 an après le traitement serait probablement due à la réinfestation, car l'O.N est une zone de transmission permanente et par conséquent on est en face d'une réinfestation rapide et continue plutôt qu'un échec thérapeutique. Une personne doit être suivie 6 à 8 semaines après le traitement et une personne traitée peut se réinfester quelque jours après le traitement et 4 semaines plus tard le ver adulte s'installe avant même l'ovurie. Cela est remarquable surtout chez les jeunes qui ont une prévalence élevée et ont une diminution du taux de guérison.

Avec les antigènes circulants, l'effet du traitement se fait sentir surtout 1 an après le traitement, que 6 semaines seulement après le traitement. Nous constatons que le praziquantel diminue la fécondité du ver adulte et par conséquent la morbidité [ 6].

L'augmentation du taux de réduction de la prévalence des antigènes circulants 1 an après le traitement pourrait donc s'expliquer par une destruction massive du ver adulte par le praziquantel qui va augmenter le taux des antigènes circulants. Le praziquantel entraîne une destruction massive du ver adulte les premières semaines qui suivent la prise du médicament qui se traduit par une augmentation du niveau des antigènes circulants et une diminution du nombre des oeufs émis.

Pour les enquêtes épidémiologiques la technique UCAA est le plus prometteur et est moins traumatisant pour le malade. Il est également facile pour un malade de donner 10 ml d'urine que de donner 10 ml de sang.

Pour le suivi après traitement le test SCCA, est le meilleur des tests immunologiques et le plus spécifique. Cependant il faut noter des avantages d'utilisation des techniques parasitologie par rapport aux techniques de détection des antigènes circulants. Le test de détection des antigènes dure 6 heures, par contre les tests parasitologiques sont plus rapides. Le coût des anticorps monoclonaux et des conjugués est très élevé. La conservation des réactifs pour la détection des antigènes circulants se fait à moins 20° C.

C'est pour cela que les recherches sont en cours sur la détection des antigènes circulants à partir des bandelettes réactives, cela pourrait être encore plus bénéfique pour les pays endémiques et seront plus rapide, facilitera les procédures de diagnostic.

## **7- Conclusion et Recommandations**

## 7- Conclusion et Recommandation

En zone d'endémie, l'infestation par *Schistosoma haematobium* a un taux de prévalence de 82% alors que celle due à *Schistosoma mansoni* est égale à 38%.

En zone non endémique, le taux de prévalence de l'infestation par *Schistosoma haematobium* et par *Schistosoma mansoni* est égale à zéro.

Les caractéristiques épidémiologiques de l'infestation par les schistosomes (*S. mansoni* et *S. haematobium*) en zone d'endémie sont les suivants:

- il y a une prédominance du taux de prévalence de l'infection entre 7 et 14 ans.
- les femmes semblent s'infester plus souvent que les hommes, mais cette différence n'est pas significative.
- l'infestation est plus intense entre 7 et 14 ans.

Le test le plus sensible dans la détermination de l'infection semble être le test de détection des antigènes circulants cathodiques dans les urines.

L'évaluation des tests immunologiques par rapport à la filtration, montre que le test plus sensible est le test de détection des antigènes circulants cathodiques dans les urines (UCCA), et le test le plus spécifique est le test de détection des antigènes anodiques circulants dans le sérum (SCCA).

L'évaluation des tests immunologiques par rapport au le Kato, montre que le test le plus sensible est celui de détection des antigènes cathodiques circulants dans les urines (UCCA), et le test le plus spécifique est le test de détection des antigènes anodiques circulants dans les urines (UCAA).

L'évaluation des tests dans la surveillance du traitement par le praziquantel, nous montre que les meilleurs tests de surveillance du traitement sont: la filtration; le Kato (tableau n°XII). Mais cependant ceux ci entraînent une surestimation du taux de réduction de la prévalence. Les techniques de détection de SCAA et UCCA sont les meilleurs tests de surveillance compte tenu de leur grande sensibilité.

Dans une zone endémique la prévalence des tests parasitologiques et des tests immunologiques sont comparables; mais dans une zone non endémique, la prévalence des tests immunologiques sont plus élevées que celle des tests parasitologiques.

Les tests de détection des antigènes circulants sont applicables au Mali sur le terrain ce sont de bons tests. Mais cependant des efforts considérables restent encore à déployer afin de les rendre plus simples et plus rapides.

Nous formulons les recommandations suivantes:

- Améliorer d'avantage la sensibilité, et la mise au point d' une identification plus spécifique de l'espèce *Schistosome*.
- Encourager la mise au point des tests de détection des antigènes circulants à partir des bandelettes réactives,
- La détermination des deux formes de schistosomes à partir d'un seul échantillon d'urine
- Pratiquer au Mali le test de détection des antigènes circulants
- Doter l'INRSP de matériels et réactifs pour l'accomplissement de sa mission de recherche.

## RESUME

**Nom:** DEMBELE

**Prénoms:** Alfred

**Titre de la Thèse:** Evaluation de la méthode ELISA ( Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) de détection des Antigènes circulants des Schistosomes au Mali.

**Année de Soutenance:** 1997

**Ville de Soutenance:** Bamako

**Pays d'origine:** Mali

**Lieu de Dépôt:** Bibliothèque

**Secteur d'intérêt:** Parasitologie, Schistosomiase

La méthode ELISA de détection des antigènes circulants a été réalisée sur 228 individus en zone endémique à infection mixte à Siguivoucé. Le suivi à 6 semaines après le traitement a été effectué chez 32 individus.

Dans le village de Massabla zone considérée comme non endémique 39 individus ont été suivis avant; 6 semaines; et 1 an après le traitement.

A Siguivoucé c'est les techniques de détection des antigènes CCA et CAA dans les urines et sérum qui ont été effectuées puis comparées aux techniques parasitologiques classiques: la filtration et le Kato dans les urines et les selles.

Dans le village de Massabla c'est la détection des antigènes CAA dans les sérums et dans les urines qui ont été effectués.

Le taux de prévalence est respectivement 82 % et 38 % pour *S.haematobium* et *S.mansoni* à Siguivoucé.

A Massabla par contre le taux de prévalence parasitologique est nul. C'est le SCAA qui montre le taux de prévalence le plus élevé : 8 % et 3 % pour UCAA.

A Siguivoucé nous avons pour les tests immunologiques les taux de positivité de 90 % pour UCCA, 78 % pour SCAA, 74 % pour UCAA et 55 % pour SCCA.

La technique de détection de UCCA SCAA sont les plus sensibles. Le meilleur taux de réduction de la prévalence est observé avec SCCA 73 % à t1 et 95 % à t2.

Nous avons une surestimation du taux de guérison avec les tests parasitologiques. Le taux de réduction de la prévalence des antigènes circulants est plus élevé à 1 an après le traitement qu'à 6 semaines après le traitement.

Cependant aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée, liée au sexe . Une différence significative a été trouvée avant le traitement entre les tests de détection des antigènes circulants et les tests parasitologiques. Après le traitement cette différence n'est pas significative.

Les individus de 7 à 14 ans sont les plus infestés .

**Mots clés:**

*S.haematobium*, *S.mansoni*, antigènes circulants , le praziquantel ,la sensibilité, spécificité.

# **8 - Références Bibliographique**

## **8 - Références Bibliographiques**

**1 - Agnew A. M., Fulford A. J. C., De jonge N., Krijger F. W., Mwenge M., Gutschmann B., Vennervald B., Ouma J. H., Butterworth A. E., and Deelder A. M. (1993)**

The relation ship between worm burden as estimated by circulating antigen levels ( CAA) and excreted Schistosme eggs in populations infected with *S. haematobium* or *S. mansoni*.  
*CEC Schistosomiasis meeting*, Leiden.

**2 - Bergwerff. A. A; Van. Dam. G. J; Rotmans. J. P; Deelder. A. M; Kamerling. J. P; and Vliegenthart. f. G. (1994)**

The Immunologically reactive part of immunopurified circulating anodic antigen from *Schistosoma mansoni* is a threonine-linked polysaccharide consisting of  
→ 6 ) - [ B - D - GLCPA - ( 1 → 3 ) ] - B - D - GALP NAC - ( → Repeating units  
*The Journal of Biological Chemistry*, 269: 31510 - 311517.

**3 - Bickle. Q. D; Sacko. M; and Vignali. D. A. A. (1990)**

Induction of Immunity against *Schistosma mansoni* by drug ( Ro 11-3128 ).Terminated infections: analysis of surface antigen recognition. *Parasite Immunology*, 12, 569-586.

**4 - Brinkman .U. K, Werler. C, Traoré. M, Korte. R. ( 1988 )**

The national Schistosomiasis control programme in Mali, objectifs, organisation, results.  
*Trop. MED. Parasit* 39 157- 161.

**5 - Butterworth. A; Capron. A; Galhuhi. k; Ouma. J. (1993)**

Immunity and morbidity in Humen *Schistosoma mansoni*  
*CEC Schistosomiasis meeting*, Leiden

**6 - Capron. A.,Riveau G., Grzych J.M., Boulanger D., Capron. M. and Pierce.R (1994)**

Development of a vaccine strategy against human and bovine Schistosomiasis  
*Tropical and Géographical Médecine* 46: 242-246

**7 - Correa - Oliveira. R; Dusse. L. M. S; Viana. I. R. C; Colley. D.G; Santos Carvalho. O; and Gazzinelli. G. (1988)**

Human antibody responses against Schistosomal antigens. I Antibodies from patients with ankylostoma, *Ascaris Lumbricoïdes* or *Schistosoma mansoni* infections reat with Schistosome antigens;  
*Am. J. Trop. Med. Hyg* 38 (2) .348- 355 ( 87-88 ).

**8 - Dabo. A, Doumbo. O et Traoré. M. S. (1990)**

Distribution géographique des mollusques au Mali.  
*OCCGE, Conférence Internationale sur la situation épidémiologique et les stratégies de lutte contre les Schistosmiasés en Afrique de L'ouest*. Niamey 30 janv - 2 fév

**9 - De clercq. D; Rollinson. D; Dirra. A; Sacko. M; Coulibaly. G; Landouré. A; Traoré; Southgate. V. R; Kautas. A; Verduyze. J. (1994)**

Schistosomiasis in Dogon country, Mali: Identification and prévalence of the Species responsible for infection in the local community.  
*Transactions of the Royal Society of Tropical Medecine and Hygiène* 88 ,653-656.

- 10 - De Clercq. D; Sacko. M; Vercruyse. J; Diarra. A; Landouré. A; Vanden Busche. V; Gryseels. B; Deelder.A. (1995)**  
Comparison of the circulating anodic antigen detection assay and urine filtration to diagnose *S. haematobium* infections in Mali.  
*Transactions of the Royal Society of Tropical Medecine and Hygiène* 89 ,395-397.
- 11 - De clercq. D; Diarra. A; Sacko. M; Coulibaly. G; Landouré. A; Traoré. M; and Vercruyse.J. (1993)**  
Lack of evidence of *Schistosoma Intercalatum* transmission in Dogon country, Mali  
*CEC Schistosomiasis meeting, leiden*
- 12 - De clercq. D. (1996)**  
The épidémiology and control of human Schistosomiasis and geohelminthiasis in Mali. West Africa PhD Thesis.
- 13 - Deelder. A.M; De Jonge. N; Fillié. Y. E; Kornelis. D; Helaha. D; Qian. Z. L; De caluwé. P and Polderman. A. M. (1989)**  
Quatitative determination of circulating antigens in human Schistosomiasis mansoni Using an Indirect Haemaglutination assay.  
*American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* 40:50 - 54.
- 14 - Deelder. A. M; De jonge. N; Berman. O.C; Fillié. Y. E; Hiberath. G. W; Rothmans.J. P; Gerritse. M. J; and Schut. D. W. O. A. (1989)**  
Sensitive Determination of circulating anodic antigen in *Schistosoma mansoni* infected individuals by an enzyme linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies.  
*American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* 40: 268-272.
- 15 - Deelder. A. M; Miller. R. L; DE jonge. N; and Krijger. F. W. (1990)**  
A new technique in diagnostic of ancient disease: assaying shistosome antigen in mummy tissue. *The Lancet* i: 724-725.
- 16 - Deelder. A. M; Konelis. D. (1981)**  
Immunodiagnostis of recently acquired *Schistosoma mansoni* infection. A comparison of various immunological techniques.  
*Tropical and Geographical Medecine* 33 : 36-41
- 17 - Deelder. A. M; Qian. Z. L; Kremsner. P. G; Acosta. L; Rabello.A . L. T; Enyong. P; Simarro. P. P; Van Etten. E. C. M; Rotmans. J. P; Fillier. E. Y; De jonge. N; Agnew. A.M; Van lieshout. L.C (1994)**  
Quantitative diagnosis of *Schistosoma* infections by measurement of circulating antigens in serum and urine. *Tropical and Geographical Medecine* vol 46 n°4 233- 238.
- 18 - Dégrémont.A.A; Burki.A; Burnier.E; Sweizer.W; Meudt.R; Tanner.M (1985)**  
Value of ultrasonography in investigating morbidity due to *S.haematobium* infection.  
*Lancet* i: 662-665.
- 19 - De jonge. N; Polderman. A .M; Hilberath. G. W; Krijger. F. W; Deelder. A .M (1990)**  
Immunodiagnosis of Schistosomiasis patients in the Netherlands: Comparison of antibody and antigen detection before and after chemotherapy. *Trop. Med Parasitol* 41: 257-261.

- 20 - De jonge. N; Kremsner. F. G; Krijger. F. W; Shommer. G, Fillier. Y. E; Kornelis. D; Van Zeyl. R. J. M; Van Dam. G. J; Feldmeier. H; Deelder.A .M. (1990)**  
 Detection of the Schistosome circulating cathodic antigen by enzyme immunoassay using biotinylated monoclonal antibodies.  
*Transaction of the Royal Society of Tropical Medecine and Hygyene* , 84: 815-818.
- 21 - De Jonge. N; Gryseels. B; Hilberath. G. W; Polderman.A. M; and Deelder.A.M . (1988)**  
 Detection of circulating anodic antihgen by ELISA for seroepidemiology of Schjistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medecine and Hygiene* 82 : 591-594.
- 22 - De jonge. N; Boerman. O. C; Deelder. A. M. (1989)**  
 Time - resolved immunofluoremetric assay ( TR-IFMA ) for the détection of the Schistosome circulating anodic antigen. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medecine and Hygiene* 83: 659-663.
- 23 - De jonge. n; Schommer. G; Krijer. F. W; Feldmeier.H ; Zwingenberger.K; Steiner. A; Bienzle. U; Deelder.A. M (1989)**  
 Presence of circulating anodic antigen in Serum of S. intercalatum infected patiens from Gabon. *Acta .Trop* 46: 115- 120;
- 24-De jonge.N. (1990)**  
 Immunodiagnosis of Schistosoma infections by détection of the circulating anodic antigen. PhD Thesis. Université de Leiden..
- 25- De Savigny.D; Voller.A (1980).**  
 The communication of quantitative ELISA results. In: Developments in clinical biochemistry. I. Immunoenzymatic assay techniques (Ed. : Malvano R). Martinus Nijhoff Publ./ The Hague pp 116- 132.
- 26- De Vlas.S .J; Gryseels. B. (1992)**  
 Underestimation of S. mansoni Prevalences. *Parasitology to day* vol 8 n°8 247-277.
- 27- De Vlas .S J; Gryseels.B; Van Oortmarssen. G. J; Polderman. A.M; Habbema. J. D. F. (1993)**  
 A pocket chart to estimate true S. mansoni prévalences .  
*Parasitology to day* vol 9 n°8 305-307
- 28- De Water.R; Van Marck EAE; Fransen.J.A.M; Deelder.A.M (1988) .**  
 Schistosoma. mansoni: ultrastructural localisation of the circulating anodic antigen and the circulating cathodic antigen in the mouse kidney glomerulus.  
*American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* 38:118-124
- 29- Diakité. M. (1995)**  
 Evaluation de la qualité diagnostique d'une technique de digestion / sédimentation dans le dépistage de l'infection à Schistosoma mansoni (Sambon 1907).  
 PhD Thèse pharmacie n°7

**30- Diarra .A .M (1990)**

Evaluation d'une stratégie opérationnelle de lutte contre les Schistosomias au Mali  
OCCEG, Niamey 30 janv - 2 fév.

**31- Djémila .P (1994)**

Présence de l'antigène anodique circulant (CAA) et de l'antigène cathodique circulant dans les urines de patients de *S. haematobium* et de *S. mansoni* au Mali. Effet du praziquantel sur une infection à *S. haematobium*. Mémoire d'étude doctorale.

**32- Doucouré .B. (1989)**

Intérêt épidémiologique et diagnostic de l'utilisation des techniques ELISA et Western blotting dans le dosage des anticorps anti P 31 et anti P 32 dans l'évaluation d'une stratégie de contrôle des Schistosomias à l'école de Molodo. Le traitement de masse au praziquantel Thèse pharmacie. 148P

**33- Doumengué.J.P; Mott.K.E; Cheung.C; Villenave. D; Chapuis.O; Perrin.M F; Reaud-Thomas.G. (1987)**

Atlas de la répartition mondiale des Schistosomias Talence, CCGET. CNRS.  
Geneve: OMS/WHO.

**34- Feldmeier. H; Nogueira- Queirez.J. A; Peixoto- Queiroz.M .A; Doehring. E; Dessaint. J. A; De Alencar. J.E; Dafalla. A. M (1986).**

Détection and quantification of circulating antigen in Schistosomiasis by monoclonal antibody II . The quantification of circulating antigens in human Schistosomiasis mansoni and haematobium: relation ship to intensity of infection and disease status.

*Clin Exp Immunol* 65: 659- 663.

**35- Gentillini.M; Caumes.E; Danis.M; Mouchet.J; Duflo.B; Lagardere.B; Richard. Lenoble.D; Brucker.G. (1993)**

*Medecine Tropicale*, 5è éd Flam .Méd sciences paris: 221-236.

**36- Gryseels.B; Stelma.F.F; Talla.I; Van Dam.G.J; Polman.K ; Sow. S ; Diaw.M;Sturrock.r.F; (1994)**

**Doehring-Schewerdtfeger.E; Kardoff. R; Decam.c; Niang.M; Deelder.A.M.**

Epidémiology, Immunology and chemotherapy of *Schistosoma mansoni* infections in a recently exposed community in Senegal.

*Tropical and Geographical Medecine* vol 46 n°4 209- 219.

**37- Hagan. P; Chandiwana.S ; Ndhlovu. P; Woolhouse.M; Dessenin.A. (1993)**

The epidemiology , immunology and morbidity of *S. haematobium* infections in diverse communities in Zimbabwe. *CEC Schistosomiasis meeting* , leiden.

**38- Hunter.J.M; Rey.L; Chu.K.Y; Adekolu John.E.O; Mott.K.E. (1994)**

Parasitoses et mise en valeur des ressources hydriques. OMS Genève.

**39- Institut National de Recherche en Santé Publique (1995) (INRSP) Bamako Mali**

*Rapport Scientifique Annuel.*

**40- Karambiri. B. (1980)**

Epidemiologie des Bilharzioses dans la vallée du oucouyanko : essai de traitement par le praziquantel Thèse medecine Bamako.

**41- Kardoff.R; Traoré.M; Diarra.A; Sacko.M; Maïga. M; Francke.D; Vester.U; Hansen.U; Traoré.H.A; Fongoro.S; Gorgen.H; Korte.R; Gryseels.B; Doehring-Swerdtfger.E H; and Herrich.J.H. (1994)**

Lack of Ultrasonographic evidence for severe Hepatosplenic morbidity in Schistosomiasis mansoni in Mali. *American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* ; 51 (2), pp 190-197.

**42- Kremsner .PG; Lehman.L.G; Enyong.P; Krijger. F.W; De jonge.N; Zotter.G.M; Thahammer.F; Mühlshlegel.F; Bienze.U; Feldmeier.H; Deelder.A.M. (1993.)**

Détermination of circulating anodic antigen and circulating cathodic antigen in serum and urine of Schistosoma haematobium infected children from Cameroon: A longitudinal study after chemotherapy. *CEC Schistosomiasis meeting leiden.*

**43- Krijger.F.W; Van Lieshout. L; and Deelder. A.M. (1994)**

A simple technique to pretreat urine and serum samples for quantification of Schistosome circulating anodic and cathodic antigen. *Acta Tropica*; 56: 55-63.

**44- Mohamed-Ali. Q; Doehring-Schwerdt feger.E; ABdel-rahim.I.M; Schlake.J; Kardoff. R; Chritoph Kaiser.D.F; Elsheikh.M; Abdalla.M;Schafer.P;and Ehrich. J.H.H. (1991)**

Ultrasonogrphical Investigation of perportal fibrosis in children with S. mansoni infection: Revesibility of morbidity seven month after treatment with praziquantel. *American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* (44) (4) pp 444 - 451.

**45-Mott.K.E (1990)**

Lutte contre la Schistosomiase et contrastes. *OCCGE* Niamey 30 janv -2 fév.

**46- Nash. Theodore.E**

Localisation of the circulating antigen with in the gut of S. mansoni . *American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* vol 23 n°6 1674.

**47- Nash .T.E (1978)**

Antibody response to polysacchide antigen present in the schistosome gut .I.Sensitivity and specifity. *American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* 27: 938- 943.

**48- Nash .T.E, Nasir-UD-DIN, and Roger W.J.**

Further purification and characterization of a circulating antigen in Schistosomiasis. *Journal of Immunology* vol 119: 1627- 1633.

**49- O M S (1993). Deuxième rapport du comité OMS d'experts .**

Lutte contre la Schistosomiase Genève.

**50- O M S (1984) Magazine. Santé du monde . Décembre.****51- O M S (1985). Rapport d'un comité d'experts de lutte contre la Schistosomiase . Genève.**

- 52-O.M.S** (1993). *Parasitologie Médicale: Techniques de Base* pour le Laboratoire Genève.
- 53- Pierre-R.J; Riveau-G; Khan C.M.A; Villavreal.B; Chatfield S.N; Dougan G; Capron.A et Homaeche.C.** (1993)  
Secretary and Humoral Immune reponse to SM 28 GST after oral immunisation in mice using a recombinant live vaccine vector (Salmonella Typhimurium )  
*CEC Schistosomiasis meeting* 6-10 September.
- 54- Polman. K; Stelma. F.F; Gryseels. B; Van Dam. G.J; Talla. I; Niang. M; Van Lieshout. L; and Deelder. A.M.** (1995)  
Epidemiologic application of circulating antigen detection in a recent Schistosoma mansoni focus in Northern Senegal.  
*American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 53, 152-157.
- 55- Roitt. I.** Immunologie. Ed Méd internationales Copyright 1990 Ed Pradel, Paris.  
Reconnaissance de l'antigène PP: 69-84.
- 56- Ruiz-Tiben.E; Hillyer.G.V; Knight.W.B; De rios.I.G; and Woodall.J.P.** (1979)  
Intensity of infection with S. mansoni: its Relation ship to the sensivity and specificity of serologic tests. *American Journal of Tropical Medecine and Hygiene* .28 (2) pp 230-236.
- 57- Sissoko .M.** 1995  
Etude Epidémiologique des Schistosmiasis à l'office du Niger : Evaluation de l'impact de la chimiothérapie de masse au praziquantel. Thèse Pharmacie N°10.
- 58- Stadecker. M. J and Colley. D. G.** (1992)  
The Immunology of the Schistosome egg granuloma.  
*Parasitology to day* vol 8 n° 7 July (85) p 218-220
- 59- Traoré M., Traoré H. A., Kardoff R., Diarra A., Fongoro S., Landouré A., Doumbia S., Dabo A., Vester U., Doehring E., Ehrich J. H. H., Bradley D. J.** (1995)  
Etude de la morbidité liée à la Bilharziose urinaire au Mali. INRSP ; *Rapport Scientifique Annuel*.
- 60- Traoré M; Traoré H. A; Kardoff R; Diarra R; Fongoro S; Landouré A; Doumbia S; Dabo A; Vester U; Doehring E; Ehrich J. H. H; Bradley D. J.** (1995)  
Etude de la morbidité liée à la Bilharziose intestinale au Mali. INRSP *Rapport Scientifique Annuel*.
- 61- Traoré M; Diarra A; Landouré A; Maude G; Bradley D. J; Keïta S; Konaté S; Karembe A; Touré A; et Poudiougou A.** (1995)  
La bilharziose à S. Haematobium au Mali : Taux de prévalence chez les enfants d' âge scolaire comme indicateur du niveau d'endemicité au sein de la communauté. *Rapport Scientifique Annuel*.

- 62- Traoré .M. (1994)**  
A study of the epidemiology of Schistosomiasis in Mali. Towards a rationally based national control programme. PhD Thesis
- 63- Traoré. M (1990a)**  
Repartition des schistosomiasés du Mali. *Conférence OCCGE sur les Schistosomiasés*, Niamey, 30 janv - 2 fév 1990.
- 64- Traoré. M (1990b).**  
Developpement des stratégies de lutte contre les Schistosomiasés du Mali. *Conférence OCCGE sur les Shistosomiasés*, Niamey, 30 janv- 2 fév 1990.
- 65- Taoré .M; Dabo. A; Diop. S; Keïta. S; Bradley. D. J. (1995)**  
Les déterminants de la réinfection après traitement: le rôle du contact homme-eau et l'exposition à l'infection au Mali. *INRSP Rapport Scientifique Annuel*
- 66- Traoré. M; Diarra. A; Landouré. A; Maude. G; Bradley. D. J; Keïta. S; Konaté. S; Karembe.A; Touré. A; et Poudiougou. A. (1995)**  
Les Bilharzioses à *S.mansoni* et à *S. haematobium* au Mali: Réinfection après traitement dans les zones de l'Office du Niger et du plateau dogon. *INRSP Rapport Scientifique Annuel*
- 67- Van Dam. G. J; Bergwerff.A.A; Thomas- Oates.J.E; Rotmans.J.P; Kamerling.J.P; Vliegthart.J.F.G; and Deelder.A.M. (1994)**  
The immunologically réactive O linked polysaccharide chains derived from circulating cathodic antigen isolated from the human blood fluke *S. mansoni* have Lewis X as repeating unit. *European Journal of Biochemistry*, 225: 467- 482.
- 68- Van Dam. G.J; Bogitsh.B.J; Van Zeyl.R.J.M; Rotmans.J.P; and Deelder.A.M. (1996)** *J. Parasitol* (82) 4. 1996, p 557- 564 . *American Society of Parasitologists*.
- 69- Van Dam.G.J; Qian.Z; Fillié.Y.E; Rotmans. J.P; and Deelder.A.M. (1993)**  
Detection of IgM antibodies directed against the gut associated circulating cathodic antigenin sera from *S. mansoni* infected patients. Developpement and comparison of three Enzyme - linked immunoassays. *Tropical and geographical Medecine*, 45:59- 65;
- 70- Van Dam.G.J; Bogith.B.J; Van Zeyl.R.J.M; Rotmans.J.P; and deelder.A.M.**  
*Schistosoma mansoni*: In vitro and in vivo excretion of CAA and CCA by developing Schistosomula and adult worms. *Manuscript. submitted*.
- 71- Van Dam.G.J; Konelis.D; Van Zeyl.R.J.M; Rotmans.J.P; and Deelder.A.M (1993)**  
*Schistosoma mansoni*: analysis of monoclonal antibodies réactive with gut - associated antigens *Parasitology Research* ,79 : 55- 62.
- 72-Van Dam.G.J (1995)**  
Circulating gut-associated antigens of *Schistosoma mansoni*: biological, immunological, and molécular aspects. *Thesis. Université de Leiden.*

- 73- Van Lieshout.L; De jonge.N; Bassily.S; Mansour.M.M; and Deeder.A.M. (1991)**  
Assesment of cure in Schistosomiasis patients after chemotherapy with praziquantel by quantification of circulating anodic antigen (CAA) in urine. *The American journal of Tropical Medecine and Hygiène*; **44** , 323- 328.
- 74- Van Lieshout.L; De jonge. N; Mansour.M.M; Bassily.S; Krijger.F.W; and Deelder.A.M. (1993)**  
Circulating cathodic antigen levels in serum and urine of Schistosomiasis patients before and after chemotherapy with praziquantel. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medecine and Hygiène* , **87**: 311- 312.
- 75- Van Lieshout.L; De jonge. N; El Masry.N.A; Mansour.M.M; Krijger.F.W; Deelder.A.M**  
Improved diagnostic performance of the circulating antigen assay in human Schistosomiasis by parallel testing for circulating anodic and cathodic antigens in serum and urine. *The American journal of Tropical medecine and Hygiène* 1992; **47**: 463- 469.
- 76- Van. Lieshout .L; De jonge.N; El Nassy.N; Mansour.M.M; Basily.S; Krijger.F.W; and Deelder.A.M. (1994)**  
Monitoring the efficacy of differnt doses of praziquantel by quantification of circulating antigens in serum and urine of Schistosomiasis patients. *Parasitology*, **108**: 519- 526.
- 77- Van Lieshout. L; Gangaram Panday.U; De jonge.N; Krijger.F .W;Oostburg.B.F.J; Polderman. A.M; and Deelder.A .M. (1995)**  
Immunodiagnosis of Schistosomiasis mansoni in a low endemic area in Surinam by determination of the circulating antigens CAA and CCA. *Acta Tropica*, **59** :19- 29.
- 78- Van Lieshout. l; Polderman.A.M; Visser.L G; Verwey.J.J; and Deelder.A.M.**  
Detection of the circulating CAA and CCA in group of Dutch travellers With acute Schistosomiasis. *To be submitted for publication.*
- 79- Van Lieshout.L, Polderman.A.M; De Vlas.S.J; De Caluwé.P; Krijger.F.W; Gryseels.B; and deelder.A.M. (1995)**  
Analysis of worm burden variation in human Schistosoma mansoni infections by determination of serum levels of circulating anodic antigen and cathodic antigen. *The journal of Infectious Diseases*. **172**: 1336 - 1342.
- 80- Van Lieshout. L , Polman.K; Gryseels.b; and deelder .A.M.**  
Comparison of circulating antigen levels in two areas endemic for Schistosomiasis mansoni indicates local differences in worm fecundity. *To be Submitted for Publication.*
- 81- Vennervald. B.J; Reimert.C.M; Ouma .J.H; Kilama.W.L; Deelder. A.M; Hatz.C; Gryseels- B(ed) ; Deelder.A.M (ed). (1994)**  
Morbidity markers for Schistosoma haematobium infection .*Tropical and Geographical Medecine* vol 46 n°4 pp 239- 241.
- 82- Vercruysse J., Southgate V. R., Rollinson D., De clercq D., Sacko. M., De Bont J., and Mungomba L.M (1994)**  
Studies on transmission and Schistosome interactions in Senegal, Mali and Zambia. *Tropical and Geographical Medicine* **46**: 220 - 226.

**83- Wright M.D ; Davern K. M and Mitchell G.F. (1991)**

The Functional and immunological significance of some Schistosome surface molecules.  
*Parasitology today* vol 7 n° 2 February (68).

# 9 - ABBREVIATIONS

## **9 - ABREVIATIONS**

Ac = Anticorps

Ag = Antigènes

BSA = Bovine Serum Albumine

B.M.R = biopsie de la muqueuse rectale

DEA = Diethanolamine

ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

FC = fragment du complément

FMPOS = Faculté de Médecine de Pharmacie et d'odonto-stomatologie

G.S.T = glutathion -S- transférase

IgG = Immunoglobuline G

IgM = Immunoglobuline M

I.H.A = indirect haemagglutination assay

INRSP = Institut Nationale de Recherche en Santé Publique

K.Da = Kilodalton

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

ON = Office du Niger

P = Prévalence

PBS = Phosphate Buffered Saline

PEG = PolyEthylène Glycol

PNLCS = Programme National de Lutte contre les Schistosomiasis

P-NPP = Para-NitroPhenyl Phosphate

S = Sensibilité

SCAA = Serum Circulating Anodic Antigen (Antigènes Anodique Circulant du Serum)

SCCA = Serum Circulating Cathodic Antigen (Antigènes cathodic circulant du Serum)

**10. Assay buffer (taçon).**

. Pour CAA: ajouter 5,0 g de PEG-1000 et 200 $\mu$ l de TWEEN\*-20 à un litre de PBS 0,035M. Ajuster au Ph 7,8.

. Pour CCA: Ajouter à l'assay buffer pour CAA 0,1% de BSA (pour 100ml de CAA-100mg de BSA).

**11. Solution alcaline: 0,244 M Na-carbonate. 500ml.**

Dissoudre: 7,30g NaHCO<sub>3</sub> (MW = 84,0)

3,70g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (MW = 105,99)

dans +/- 900ml d'eau distillée. Ajuster au Ph 9,6 et ajouter de l'eau distillée jusqu'à un volume total de 500ml.

INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE  
EN SANTE PUBLIQUE

SERVICE PARASITOLOGIE/PROGRAMME NATIONAL  
DE LUTTE CONTRE LES SCHISTOSOMIASES

PROJET STD3/RUG - INRSP

# FICHE D'ENQUETE (Parasitologie et sérologie)

REGION.....

CERCLE.....

VILLAGE.....

FAMILLE.....

INDIVIDU.....

AGE   SEXE  ETHNIE

DATE	ENQUETE	Sh oeuf/10 ml	Sm OPG	Autres helminthes OPG	Titre CAA Serum	Titre CAA Urine	Titre CCA Serum	Titre CCA Urine	Traitement
	Initiale								
	6 semaines /2mois								
	1 an								
	2 ans								

Observations:

## SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

**S.haematobium = Scistosoma haematobium**

**S.mansoni = Schistosoma mansoni**

**Sp = Spécificité**

**UCAA = Urine CAA**

**UCCA = Urine CCA**

**VPN = Valeur Prédictive Négatives**

**VPP = Valeur Prédictives Positives.**

# **10- ANNEXES**

## **10- ANNEXES:**

### **Réactifs pour ELISA:**

#### **1. Solution d'Anticorps:**

Diluer l'anticorps monoclonal anti-CAA ou anti-CCA IgM dans du BSA 0,035M jusqu'à une concentration finale de 5µg/ml.

#### **2. Solution BSA 0,033%**

Dissoudre 4 mg de BSA(Bovine Serum Albumine, fraction v) dans 12 ml de PBS 0,035M

#### **3. Solution d'anticorps biotinylés ou phosphatase alcaline.**

Diluer l'anticorps dans l'assay buffer (tampon) . La dilution optimale doit être déterminée pour chaque nouveau batch( la dilution est marquée sur le tube).

#### **4. PBS 0,35M (10 fois concentré).**

Dissoudre: 114,6g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	(MW = 358,14)
4,76g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(MW = 136,09)
85 g NaCl	(MW = 58,44)

dans +/- 900ml d'eau distillée.

Ajuster au Ph 7,8 et ajouter de l'eau distillée jusqu'à un volume total d'un litre.

#### **5. Solution de PBS 0,035M.**

Ajouter 100ml de PBS 10 fois concentré à 900ml d'eau distillée. Ajuster au Ph 7,8.

#### **6. Washing buffer (solution de lavage)**

ajouter 25ml de PBS 10 fois concentré ou 250ml de PBS 0,035M à 5 litres d'eau distillée.

#### **7. Solution de streptavidine/AP.**

Diluer la streptavidine dans l'assay buffer. (1/4000, 1/6000, 1/8000, 1/10000, 1/12000, ou 1/16000).

#### **8. Solution de substrat: 0,1% P-NPP.**

Dissoudre 10 mg de P-NPP(MW= 376,11) dans 10ml de DEA 0,1M.

#### **9. Solution de DEA 0,1M:500ml.**

. Solution Mgcl<sub>2</sub> 1,0M: dissoudre 2,033g de Mgcl<sub>2</sub> dans 10ml d'eau distillée.

. Solution Dea (diethanolamine) : ajouter 4,75ml de DEA et 250µl de Mgcl<sub>2</sub> 1,0M à +/- 450ml d'eau distillée. Ajuster au Ph 6,6 et Ajouter de l'eau distillée jusqu'à un volume de 500ml.