

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République du Mali

Un peuple-Un but-Une foi

Université de Bamako



UNIVERSITE
DE BAMAKO

Année Académique: 2009-2010

Faculté de Médecine, de Pharmacie
et d'Odonto-Stomatologie



N°

TITRE

Applicabilité de la technique ELISA pour la détection de la protéine cationique d'éosinophile et de la protéine d'éosinophile en cas de bilharziose urinaire au Mali

THESE

Présentée et soutenue publiquement le// 2010

Devant

La Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par

Monsieur Ousmane Hamadou KONATE

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

Président du jury : Professeur Amadou DIALLO

Membre du jury : Docteur Sékou BAH

Co-Directeur de thèse : Docteur Moussa SACKO

Directeur de thèse : Professeur Amadou TOURE

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2010 - 2011

ADMINISTRATION

DOYEN : ANATOLE TOUNKARA - PROFESSEUR
 1^{er} ASSESSEUR : BOUBACAR TRAORE - MAITRE DE CONFERENCES
 2^{eme} ASSESSEUR : IBRAHIM I. MAIGA - MAITRE DE CONFERENCES
 SECRETAIRE PRINCIPAL : IDRISAH AHMADOU CISSE - MAITRE -ASSISTANT
 AGENT COMPTABLE : MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL - CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

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

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale, Chef de D.E.R
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie – Réanimation
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Mohamed KEITA	ORL

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO
Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahamane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou KONE
Mr Sékou F.M. TRAORE
Mr Mamady KANE

Biologie
Chimie Organique
Parasitologie – Mycologie
Chimie Organique
Immunologie
Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie
Entomologie Médicale
Radiologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE
Mr Flabou BOUGOUDOGO
Mr Amagana DOLO
Mr Mahamadou CISSE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Ibrahim I. MAIGA
Mr Mahamadou A. THERA
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Mouctar DIALLO
Mr Djibril SANGARE
Mr Boubacar TRAORE
Mr Mounirou BABY
Mr Guimogo DOLO
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Lassana DOUMBIA
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Cheik Bougadari TRAORE
Mr Souleymane DIALLO

Histoembryologie
Bactériologie-Virologie
Parasitologie **Chef de D.E.R.**
Biologie
Malacologie, Biologie Animale
Bactériologie – Virologie
Parasitologie -Mycologie
Biophysique
Biologie Parasitologie
Entomologie Moléculaire Médicale
Parasitologie Mycologie
Hématologie
Entomologie Moléculaire Médicale
Biologie
Chimie Organique
Entomologie Moléculaire Médicale
Anatomie-Pathologie
Bactériologie-Virologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bouréma KOURIBA
Mr Mahamadou DIAKITE
Mr Bakarou KAMATE
Mr Bakary MAIGA
Mr Bokary Y. SACKO

Immunologie
Immunologie – Génétique
Anatomie Pathologie
Immunologie
Biochimie

4. ASSISTANTS

Mr Mamadou BA
Mr Moussa FANE
Mr Blaise DACKOUCO
Mr Aldiouma GUINDO
Mr Boubacar Ali TOURE
Mr Issa KONATE
Mr Moussa KONE
Mr Hama Abdoulaye DIALLO
Mr Seydina Aboubacar Samba DIAKITE
Mr Mamoudou MAIGA
Mr Samba Adama SANGARE
Mr Oumar GUINDO
Mr Seydou Sassou COULIBALY
Mr Harouna BAMBIA
Mr Sidi Boula SISSOKO
Mr Bréhima DIAKITE
Mr Yaya KASSOUGUE
Mme Safiatou NIARE
Mr Abdoulaye KONE
Mr Bamodi SIMAGA
Mr Klétigui Casmir DEMBELE
Mr Yaya GOITA

Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
Parasitologie Entomologie
Chimie Analytique
Hématologie
Hématologie
Chimie Organique
Chimie Organique
Immunologie
Immunologie
Bactériologie
Bactériologie
Biochimie
Biochimie
Anatomie Pathologie
Hysto-Embryologie
Génétique
Génétique
Parasitologie
Parasitologie
Physiologie
Biochimie Clinique
Biochimie Clinique

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie – Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubakar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie, Chef de DER
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa Ah. CISSE	Rhumatologie/Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mme KAYA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Mahamadoun GUINDO	Radiologie
Mr Ousmane FAYE	Dermatologie
Mr Yacouba TOLOBA	Pneumo-Phtisiologie
Mme Fatoumata DICKO	Pédiatrie
Mr Boubacar DIALLO	Médecine Interne
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA	Neurologie
Mr Modibo SISSOKO	Psychiatrie
Mr Ilo Bella DIALL	Cardiologie
Mr Mahamadou DIALLO	Radiologie
Mr Adama Aguisa DICKO	Dermatologie
Mr Abdoul Aziz DIAKITE	Pédiatrie
Mr Boubacar dit Fassara SISSOKO	Pneumologie
Mr Salia COULIBALY	Radiologie
Mr Ichaka MENTA	Cardiologie
Mr Souleymane COULIBALY	Cardiologie
Mr Japhet Pobanou THERA	Médecine Légale/Ophthalmologie

4. Assistants

Mr Drissa TRAORE	Anatomie
------------------	----------

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE
Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Elimane MARIKO

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

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO
Mr Alou KEITA
Mr Benoît Yaranga KOUMARE
Mr Ababacar I. MAIGA
Mme Rokia SANOGO
Mr Saïbou MAIGA

Matières Médicales
Galénique
Chimie Analytique
Toxicologie
Pharmacognosie
Législation

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE
Mr Ousmane KOITA
Mr Yaya COULIBALY
Mr Abdoulaye DJIMDE
Mr Sékou BAH
Mr Loséni BENGALY

Galénique
Parasitologie Moléculaire
Législation
Microbiologie-Immunologie
Pharmacologie
Pharmacie Hospitalière

4. ASSISTANT

Mr Aboubacar Alassane Oumar
Mr Sanou Khô COULIBALY
Mr Tidiane DIALLO
Mr Bourama TRAORE
Mr Mr Issa COULIBALY
Mr Mahamadou TANDIA
Mr Madani MARIKO
Mr Mody CISSE
Mr Ousmane DEMBELE
Mr Hama Boubacar MAIGA
Mr Bacary Moussa CISSE
Mr Adama DENOU
Mr Mahamane HAIDARA
Mr Hamadoun Abba TOURE
Mr Balla Fatoma COULIBALY

Pharmacologie Clinique
Toxicologie
Toxicologie
Législation
Gestion
Chimie Analytique
Chimie Analytique
Chimie Thérapeutique
Chimie Thérapeutique
Galénique
Galénique
Pharmacognosie
Pharmacognosie
Bromatologie
Pharmacie Hospitalière

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamadou Souncaleo TRAORE
Mr Jean TESTA
Mr Massambou SACKO
Mr Alassane A. DICKO
Mr Seydou DOUMBIA
Mr Samba DIOP
Mr Hamadoun SANGHO

Santé Publique, **Chef de D.E.R.**
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Epidémiologie
Anthropologie Médicale
Santé Publique

2. MAITRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA
Mr Hammadoun Aly SANGO
Mr Akory AG IKNANE
Mr Ousmane LY
Mr Cheick Oumar BAGAYOKO
Mme Fanta SANGHO

Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Informatique Médecine
Santé Communautaire

3. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO	Biostatistique
Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale
Mr Abdrahamne ANNE	Bibliothéconomie-Bibliographie

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Boubou DIARRA	Bactériologie
Mr Zoubeïrou MAÏGA	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique
Mr Cheick O. DIAWARA	Bibliographie
Mr Ousmane MAGASSY	Biostatistique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie
Pr. Lamine GAYE	Physiologie
Pr. Pascal BONNABRY	Pharmacie Hospitalière

DEDICACES

Merci Seigneur, de m'avoir permis de mener à bien ce travail.

Je dédie ce travail :

- *A mes deux parents Hamadoun et Coumba, et, à mon frère Harouna qui est aussi mon ami*

Pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard, afin que je puisse mener à bien ces études. Vous avez su m'inculquer le sens du devoir, de la responsabilité, de l'honneur et de l'humilité. Je ne pourrai jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction.

Que Dieu, le Tout Puissant vous bénisse et vous garde le plus longtemps possibles à mes cotés ;

- *A ma défunte grand mere: KONATE Binta BAH*

Que je n'ai pas eu la chance de connaître. Reposez en paix ton époux et toi.

REMERCIEMENTS

- A la famille de Mr. Sidi Mohamed HAIDARA, je ne me suis jamais senti étranger chez vous, toutes les portes m'étaient ouvertes. Mes sincères remerciements.
- A mon ami et frangin Mohamed, et à toute la famille de Mr. Lassana HAIDARA. Mes sincères reconnaissances.
- Au Docteur Moussa SACKO, pour son soutien et sa patience. Malgré vos multiples occupations, vous avez dirigé ce travail avec rigueur et l'objectivité que l'on vous connaît. Votre accueil, votre simplicité, votre grande disponibilité, votre sens de la responsabilité nous ont beaucoup marqué. Nous garderons de vous le souvenir d'un maître dévoué soucieux du travail bien accomplis et doué de qualités scientifiques, humaines... Merci pour tout.
- A tous mes parents et à mon oncle en particulier (qui se reconnaitra), merci pour votre soutien
- A mes amis, que je considère comme des frères, que je ne peux nommer de peur d'en oublier, mais je suis sûr qu'ils se reconnaitront car nous sommes un groupe soudé. Que chacun trouve ici l'expression de ma sincère gratitude pour le soutien moral et matériel que j'ai trouvé auprès de vous et en toutes circonstances.
- Au personnel de l'INRSP de Bamako-coura plus particulièrement à mon collègue Fofana, merci pour tout.

A mes Maîtres, merci pour les conseils et les encouragements qui ont été déterminants dans ma formation. Veuillez trouver dans ce modeste travail, qui est aussi le votre, notre profonde gratitude.

- Au Professeur Amadou TOURE

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de nous aider, nous a profondément marqué. Votre disponibilité, votre amour du travail bien fait, la rigueur de votre raisonnement scientifique ont été pour nous hautement profitables.

Votre courtoisie, votre simplicité et l'ambiance cordiale dans laquelle nous avons travaillé constituent sans doute une infime partie de vos nombreuses qualités. Hommage respectueux.

- Au Professeur Birgitte VENNERVALD coordinatrice et superviseur du projet MustSchistUkema (Université de Copenhague). A toute l'équipe de recherche du projet, notamment au Docteur REIMERT et à Ms. KRONBERG, pour la qualité de leur formation et pour leur assistance.
- Au consortium du projet MustSchistUKEMA et à tous les partenaires : KEMRI, l'Ouganda, l'Université de Cambridge et l'Université de Leiden.
- A l'Union Européenne pour le financement du projet (N°: DL517733)
- Au corps professoral de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie pour la qualité de l'enseignement que j'ai reçu.
- A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail d'une manière ou d'une autre, ne serait ce qu'un petit instant, toute ma reconnaissance.

A notre Maître et Président du jury

Professeur Amadou DIALLO

Recteur de l'Université de Bamako

**Professeur titulaire de Biologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako**

Cher maître, c'est un grand honneur et un réel plaisir pour nous de vous avoir comme président de notre jury.

Vous nous avez toujours manifesté un attachement et une sympathie auxquels nous n'avons jamais su répondre en totalité.

Votre simplicité, votre rigueur scientifique et vos connaissances ont toujours été à la disposition de la jeune génération.

Homme aux dimensions sociales inestimables, vous avez réussi avec modestie à concilier en vous l'Homme et le grand Maître que vous êtes.

Veillez trouver ici cher Maître, l'expression de nos sentiments respectueux.

A notre Maître et juge

Docteur Sékou BAH

PhD en Pharmacologie

**Maitre assistant en Pharmacologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et
d’Odonto-Stomatologie de l’Université de Bamako**

Ressource de Pharmacie du CHU du Point G

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Votre abord facile et votre rigueur sont des atouts qui nous fascinent. Nous restons toujours admiratifs devant de telles attitudes.

Soyez assuré cher Maître de notre sincère reconnaissance.

A notre Maître et Co-Directeur de thèse

Docteur Moussa SACKO

PhD En Parasitologie médicale

Maître de Recherche

**Chef du Service de Parasitologie de l'Institut National de Recherche en Santé
Publique**

**Chargé de cours à l'Institut National de Formation en Science de la Santé et à la
Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Bamako**

Coordinateur du Réseau de Recherche sur les Schistosomiasés en Afrique

Nous avons été très honorés de la confiance que vous nous faites en nous confiant ce travail. Votre dynamisme, votre respect et votre amour du travail bien fait ont forgé en vous l'estime et l'admiration de tous. A présent vous constituez pour nous un modèle de courtoisie, de simplicité et de cordialité.

Nous avons trouvé en vous certes un Maître mais aussi un oncle soucieux de notre encadrement.

Cher Maître, veuillez trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance et notre respect.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Amadou TOURE

**Directeur General Adjoint de l' Institut National de Recherche en Santé
Publique**

**Chef de Service du Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de la
Reproduction de l' Institut National de Recherche en Santé Publique**

**Professeur agrégé d'Histologie-embryologie à la Faculté de Médecine de
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako**

C'est un grand honneur pour nous d'être compté parmi vos élèves. Votre abord facile, votre franc-parler et vos qualités exceptionnelles de formateur ont forcé notre admiration et notre estime. Vos compétences et votre grande expérience ont fait de vous une référence.

Trouvez ici cher Maître, le témoignage de notre sincère reconnaissance et profonde gratitude pour tout ce que vous avez fait pour nous.

Applicabilité de la technique ELISA pour la détection de la protéine cationique d'éosinophile et de la protéine d'éosinophile X en cas de bilharziose urinaire au Mali

Table de matière:

Liste du personnel et du corps professoral de la FMPOS.....	II
Dédicace.....	VIII
Remerciements.....	IX
Hommages aux membres du jury.....	XI
Table de matière.....	XVI
Liste des sigles et abréviations.....	XVIII
Listes des tableaux, graphiques et figures.....	XX

Introduction.....	1
Objectifs.....	4
<i>Objectifs général.....</i>	<i>4</i>
<i>Objectifs spécifiques.....</i>	<i>4</i>

Chapitre I : Quelques généralités sur la bilharziose.....	5
1-Historique.....	5
2-Définition.....	5
3-Classification.....	6
4-Epidémiologie.....	6
4.1-Répartition géographique.....	6
4.2-Parasitologie.....	7
4.3-Cycle du parasite.....	9
5-Clinique et pathogénie de la maladie.....	12
5.1-Phase de pénétration.....	12
5.2-Phase invasion.....	12
5.3-Phase d'état.....	13
5.4-Complication.....	14
5.5-Signes biologiques d'orientation du diagnostic.....	14
6-Facteurs immunitaires.....	14
7-Diagnostic.....	15
7.1-Diagnostic parasitologique.....	15
7.2-Biopsie de la muqueuse rectale.....	16
7.3-Diagnostic immunologique.....	16
7.4-Diagnostic échographique.....	20
7.5-Autres examens biologiques.....	20
8-Traitement et Prophylaxie.....	20
9-Situation des schistosomiasés au Mali.....	25

Chapitre 2 : Méthodologie.....	27
1-Les lieux d'étude.....	27
1.1-INRSP.....	27
1.2-Zone de collecte des échantillons.....	29
2-Type et période d'étude.....	31
3-Echantillonnage.....	31
4-Considérations éthiques.....	31
5-Matériels et techniques utilisées.....	31
5.1-Techniques parasitologiques.....	31
5.1.1-Méthode de Kato-Katz.....	31

5.1.2-Méthode de filtration des urines.....	32
5.2-Technique ultrasonographique.....	34
5.3-Technique immunologique.....	34
5.3.1-Matériels et réactifs nécessaires.....	34
5.3.2-Matériels et équipages nécessaires.....	35
5.3.3-Mode opératoire.....	35
6-Variables utilisées.....	39
7-Méthodes de saisie, de traitement et d'analyse de données.....	39
Chapitre 3 : Résultats.....	40
1-Perception clinique.....	40
2-Analyses parasitologiques et examen échographique.....	40
3-Analyses immunologiques.....	43
Chapitre 4 : Commentaires et Discussion.....	51
Chapitre 5 : Conclusions.....	58
Chapitre 6 : Recommandations.....	59
Références bibliographiques.....	60
Annexes.....	67
Annexe 1 : Fiche signalétique.....	67
Annexe 2 : Fiche d'enquête.....	69
Annexe 2 : Standard operating procedure (ECP et EPX).....	70
Annexe 3 : Exemple d'un résultat ECP.....	74
Annexe 4 : Exemple d'un résultat EPX.....	75
Annexe 5 : Quelques images prises lors de l'étude.....	76
Annexe 6 : Serment de Galien.....	79

Liste des sigles et abréviations

AOF	Afrique Occidentale Française
ALB	Albendazole
ASACO	Association de Santé Communautaire
BMR	Biopsie de la Muqueuse Rectale
CAA	Circulating Anodic Antigen
CCA	Circulating Cathodic Antigen
CHRD	Center Health Research and Development
CO	Cut-Off (seuil de detection)
CSAR	Centre de Santé d'Arrondissement
CSCOM	Centre de Santé Communautaire
CSRéf	Centre de Santé de Référence
DBL	Danish Bilharzias Laboratory
DDL	Degré De Liberté
DEAP	Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires
DNSI	Direction Nationale de la Statistique et de l'Informatique
DRS	Direction Régionale de la Santé
ECP	Eosinophile Cationic Protéin
EPX	Eosinophile Protein X (EDN)
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EPS	Examen Parasitaire des Selles
EPU	Examen Parasitaire des Urines
FMPOS	Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
GB	Globule Blanc
GR	Globule Rouge
GTZ	Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (Coopération technique allemande pour le développement)
HTAP	Hypertension Artérielle Pulmonaire
HTP	Hypertension Portale
IEC	Information Education et Communication pour la santé
INFSS	Institut National de Formation en Sciences de la Santé
INRSP	Institut National de Recherche en Santé Publique
INSTAT	Institut National des Statistiques
IST	Infection Sexuellement Transmissible
KEMRI	Kenyan Medical Research Institut
LT	Lymphocyte T
MBP	Major Basic Protein
MS	Ministère de la Santé
MST	Maladie Sexuellement Transmissible
MTA	Médicament Traditionnel Amélioré
MTN	Maladies Tropicale Negligée
MustSchistUkema	Multi-Disciplinary Studies of Human Schistosomiasis in Uganda, Kenya and Mali
OMS	Organisation Mondiale de la Santé (WHO)
ON	Office du Niger
ORS	Office Riz Ségou
PCR	Polymerase Chain Reaction
PNLP	Programme National de Lutte contre le Paludisme

PNLSH	Programme National de Lutte contre les Schistosomiasés et les Geohelminthiasés
PZQ	Praziquantel
RNSA	Réseau Africain de Recherche sur les Schistosomiasés
SCI	Schistosomiasis Control Initiative
SIDA	Syndrome de l'Immunodéficiencé Acquisé
UMPP	Usiné Malienne de Produits Pharmaceutiques

Liste des Tableaux, Graphiques et Figures

Tableaux :

Tableau I : Fréquence des symptômes liés aux schistosomiasés

Tableau II-1 : Prévalence globale de *S. haematobium* et *S. mansoni*

Tableau II-2 : Résultats d'indicateurs de morbidité dans les 3 villages

Tableau II-3 : Fréquence de *S. haematobium*, de *S. mansoni* et de coïnfection (*S. haematobium* et *S. mansoni*)

Tableau II-4 : Intensité de la charge ovulaire *S. haematobium* dans les 3 villages

Tableau II-5 : Intensité de la charge ovulaire *S. mansoni* dans les 3 villages

Tableau II-6 : Répartition de la prévalence de *S. haematobium* par genre dans les 3 villages

Tableau III-1 : Résultats des concentrations ECP et EPX dans les 3 villages

Tableau III-2 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test ECP par rapport à l'intensité de la charge ovulaire de *S. haematobium* dans les 3 villages

Tableau III-3 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test EPX par rapport à l'intensité de la charge ovulaire de *S. haematobium* dans les 3 villages

Tableau III-4 : Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives et corrélation ECP par rapport à certains indicateurs de morbidité dans les 3 villages

Tableau III-5 : Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives et corrélation EPX ($\leq 500\text{ng/ml}$) par rapport à certains indicateurs de morbidité dans les 3 villages

Tableau III-6 : Fréquence des charges ECP ($\leq 5\text{ng/ml}$) et EPX ($\leq 500\text{ng/ml}$) des individus ayant une intensité de charge ovulaire nulle à *S. haematobium* et *S. mansoni*.

Graphiques :

Graph 1 : Prévalence de *S. haematobium* dans chacun des 3 Villages

Graph 2 : Répartition de la prévalence de *S. haematobium* par tranche d'âge dans les 3 villages

Graph 3 : Répartition de la prévalence de *S. haematobium* par Ethnie dans les 3 villages

Graph 4 : Représentation des résultats ECP

Graph 5 : Représentation des résultats EPX

Graph 6 : Prévalence de *S. haematobium* par la charge ECP dans chacun des 3 villages

Graph 7 : Prévalence de *S. haematobium* par la charge EPX dans chacun des 3 villages

Graph 8 : Répartition de la prévalence de la charge ECP / Ethnie dans les 3 villages

Graph 9 : Répartition de la prévalence de la charge ECP / Tranche d'âge dans les 3 villages

Graph 10 : Répartition de la prévalence de la charge EPX / Ethnie dans les 3 villages

Graph 11 : Répartition de la prévalence de la charge EPX / Tranche d'âge dans les 3 villages

Graph 12 : Prévalence de la bilharziose urinaires dans chacun des 3 villages par différents indicateurs de morbidité et les marqueurs immunologiques

Figures :

Figure 1 : Adulte de *Schistosoma haematobium*

Figure 2 : Œuf de *Schistosoma haematobium*

Figure 3 : Œuf de *Schistosoma mansoni*

Figure 4 : Œuf de *Schistosoma japonicum*

Figure 5 : Œuf de *Schistosoma mekongi*

Figure 6 : Œuf de *Schistosoma intercalum*

- Figure 7 :** *Biomphalaria glabrata*
Figure 8 : *Bulinus globosus*
Figure 9 : *Oncomelania nasophora*
Figure 10 : Principe du CCA sur les bandelettes
Figure 11 : Schéma du principe sandwich (ELISA)

INTRODUCTION

Les Schistosomiasés sont des maladies provoquées par des parasites du genre *Schistosoma*. La définition épistémologique du concept « *Schistosoma* » nous vient de la Grèce : *schisto*= fendu *et soma*=corps). Ce concept illustre bien la forme du parasite responsable de la maladie. Bien que son histoire connue remonte jusqu'à l'Ancienne Egypte, il ne fut décrit pour la première fois qu'en 1851 par Théodore BILHARZ. Ce dernier donna son nom à la maladie d'où le concept « Bilharziose ».

L'infection bilharzienne, résulte d'une parasitose due à la présence dans l'organisme de vers trématodes (schistosomes ou bilharzies) à sexes séparés.

Cinq espèces du genre *Schistosoma* sont pathogènes pour l'homme:

S. haematobium : l'agent de la bilharziose uro-génitale.

S. mansoni : responsable de la bilharziose intestinale et parfois hépatosplénique.

S. japonicum et *S. mekongi* à l'origine d'une redoutable bilharziose intestinale avec complications hépatiques.

S. intercalatum provoque une bilharziose rectale et génitale.

Les conséquences sanitaires et socio-économiques de cette maladie sont majeures dans les pays en développement, car, sur l'ensemble des maladies parasitaires, elle n'est précédée par ordre d'importance que par le paludisme. Elle est aujourd'hui dans le groupe des maladies tropicales négligées.

Elle est rencontrée dans près de 76 pays à travers le monde avec 200 millions de personnes atteintes, et, 600 millions de personnes seraient exposées de par le monde parce que vivant en zone d'endémie. Chaque année, il est signalé dans le monde 8 à 10 millions de nouveaux cas et entre 200 et 400.000 décès par an [31, 36, 16, 34, 4].

Près de 85% des personnes atteintes vivaient au Sud du Sahara avec un taux de mortalité de 200.000/an [34].

Situé en Afrique de l'ouest, le Mali est un pays très enclavé, traversé par 2 fleuves : le fleuve Niger et le fleuve Sénégal. Avec une superficie de **1 241 238 km²**, le Mali est parmi les pays les plus pauvres de la planète avec une population d'environ 14.500.000 habitants (INSTAT, 2010) [90].

Ces deux fleuves constituent des zones à risque pour les populations riveraines, les exposant ainsi aux affections parasitaires qui sont principalement le paludisme et les schistosomiasés. Suite une large distribution de la bilharziose, un projet de lutte fut créé dès 1979, il fut transformé par la suite en Programme National de Lutte contre les Schistosomiasés en 1982.

Malgré les efforts d'un programme de lutte initié depuis presque deux décennies, la bilharziose reste toujours d'actualité au Mali. Les espèces les plus rencontrées au Mali sont : *S. haematobium* et *S. mansoni*. *S. haematobium* est l'espèce la plus répandue.

aussi d'apprécier l'efficacité du traitement afin d'étudier la réduction de la morbidité et le taux de réapparition de cette dernière [25, 27, 87, 15].

Il s'agit ici d'un transfert de technologie du Nord (Danemark) vers le Sud (Mali) à travers la mise à disposition d'équipements suivie d'une formation.

L'intérêt de l'étude consiste à mieux armer les acteurs de la santé pour lutter contre la bilharziose urinaire. Par l'avènement d'un diagnostic plus sensible et précoce, elle aura pour objectif le contrôle de la morbidité liée à la bilharziose urinaire au Mali.

OBJECTIFS

Notre étude a pour objectifs :

Objectif général :

Evaluer l'applicabilité et la reproductivité de la détection des ECP/EPX par ELISA dans le diagnostique des schistosomiases au MALI.

Objectifs spécifiques :

- estimer les prévalences globales de la bilharziose urinaire et intestinale ;
- déterminer les indicateurs de morbidité, et leurs répartitions par rapport au genre, à la tranche d'âge et à l'ethnie ;
- estimer les concentrations ECP/EPX et la performance du test ;
- apprécier les degrés de significations des corrélations entre ECP/EPX et les indicateurs de morbidité liés à la bilharziose urinaire ;

CHAPITRE I: QUELQUES GENERALITES SUR LA BILHARZIOSE

1. HISTORIQUE :

En 1851 à l'hôpital KASR EL AINI au Caire, THEODOR Maximilian BILHARZ, un jeune pathologiste allemand (1825-1862) découvre le parasite dans la veine porte d'un jeune Fellah et lui donne son nom (Bilharziose comme BILHARZ) [2].

Mais déjà citée dans les *Papyrus* d'Eber (1500 ans Avant Jésus Christ), l'existence de la bilharziose à *S.haematobium* a été établie par la découverte d'œufs calcifiés dans la vessie d'une momie égyptienne de la XXème dynastie (plus de 1000 ans Avant Jésus Christ) par Marc Armand RUFFEREST en 1910 il devient ainsi le fondateur de la paléo-parasitologie [3].

Au Moyen-âge, les médecins arabes parlent de " pissements de sang " des caravaniers revenant de Tombouctou et ces hématuries sont également signalées par les chirurgiens qui accompagnent Bonaparte en Égypte.

Au 17e siècle, la traite des Noirs vers les colonies espagnoles et portugaises d'Amérique a permis l'installation de *S. mansoni* dans le Nouveau Monde.

En 1904, MANSON décrit les œufs de *S. mansoni* tandis que KATSURADA, au Japon, découvre *S. japonicum*. Enfin, en 1934, FISHER, au Zaïre, individualise *S.intercalatum* [2].

A partir de 1958, une équipe de l'Institut Pasteur de Lille a commencé à travailler sur l'immunologie des bilharzioses [5].

En 1978 le *S. mekongi* a été isolé au Laos, il est responsable de bilharziose intestinale suivie de complications artério-veineuses [2].

Les progrès récents ont porté sur l'épidémiologie, le diagnostic immunologique et le traitement par la voie orale. De plus, le modèle expérimental de la bilharziose à *S. mansoni* est largement utilisé dans l'étude des mécanismes immunitaires intervenant au cours des helminthiases.

On insiste actuellement sur l'incidence socio-économique des bilharzioses [2].

2. DEFINITION : La bilharziose est une maladie parasitaire humaine due à la présence dans l'organisme de vers trématodes (*schistosomes ou bilharzies*) à sexes séparés, hémato-phages et vivant dans le système circulatoire veineux de l'hôte définitif (l'Homme). La transmission, urinaire ou fécale, fait intervenir des hôtes intermédiaires (mollusques d'eau douce) avant que les cercaires ne pénètrent l'homme en traversant activement sa peau, ces derniers transformés en schistosomes gagnent ensuite le système circulatoire et deviennent adultes [1, 2, 7].

3. CLASSIFICATION DU PARASITE : [7, 42]

Appartenant à l'embranchement des Plathelminthes à la classe des Trématodes à l'ordre des *Prosostomata* au sous-ordre des *Strigaeta* à la famille des *Schistosomatidae* et au genre *Schistosoma*, il comprend 5 espèces différentes toutes pathogènes pour l'Homme :

<u>Espèces parasitaires</u>	<i>S. haematobium</i>
	<i>S. mansoni</i>
	<i>S. japonicum</i>
	<i>S. mekongi</i>
	<i>S. intercalatum</i>

En outre il existe d'autres espèces qui sont de véritables impasses parasitaires chez l'Homme mais qui parasitent les animaux, nous avons :

S. curasoni et *S. bovis* en Afrique de l'ouest,
S. mathei en Afrique du Sud et au Zimbabwe

4. EPIDEMIOLOGIE :

Selon l'OMS (1985, 1993), les schistosomiasis affectent près de 200 millions de personnes à travers le monde, et plus de 600 millions vivent en zone endémique. Les pathologies urinaires sont causées par *S. haematobium* et les pathologies intestinales sont causées par *S. intercalatum*, *S. mansoni*, *S. japonicum*, et *S. mekongi* [36].

Le nombre de décès dus à des défaillances rénales causées par le *S. haematobium* est estimé à 150.000 par an et ceux dus à une hypertension portale due à *S. mansoni* est estimé à 130.000 par an [35].

Les 165 millions de cas estimés en Afrique sub-saharienne correspondent à plus de 80 % des cas recensés dans le monde [6].

4.1. Répartition géographique :

Espèces	Géographie	Pathogénicité	Hôte Intermédiaire	Hôte définitif
<i>Schistosoma haematobium</i>	Afrique,	Urinaire	Bulin	Homme
<i>Schistosoma mansoni</i>	Afrique Amérique centrale Amérique du Sud Antilles	Intestinale	Planorbe	Homme Rongeurs
<i>Schistosoma intercalatum</i>	Afrique centrale	Rectale	Bulin	Homme Animaux
<i>Schistosoma japonicum</i>	Extrême-Orient	Hépatique	Oncomelania	Homme Animaux
<i>Schistosoma mekongi</i>	Asie du Sud-est	Hépatique	Lithoglyphopsis	Homme Animaux

Source: [7]

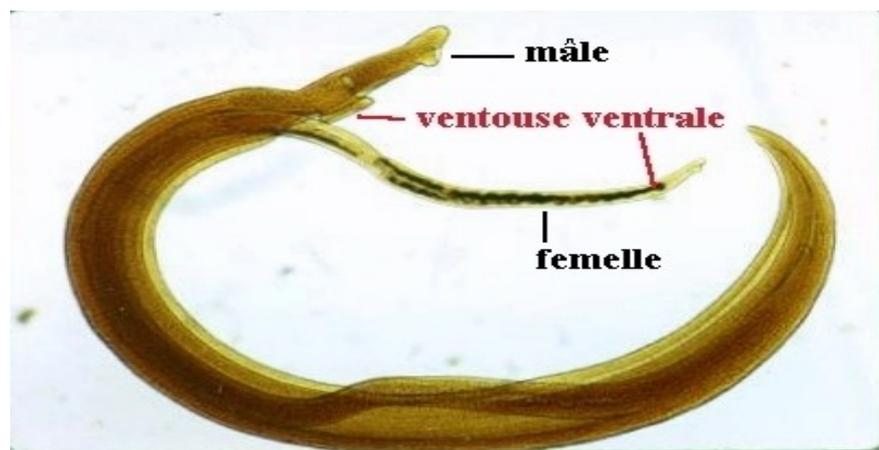
76 pays sont concernés à travers le monde.

4.2. Parasitologie : [2, 7]

Le ver : Le mâle de *S. haematobium* mesure 6 à 20 mm de long suivant l'espèce. Il est cylindrique au niveau de son tiers antérieur qui porte 2 ventouses ; le reste du corps est aplati et les bords latéraux se replient par le ventre pour délimiter le canal gynécophore où se loge la femelle. Les téguments sont couverts d'épines ou de tubercules. La femelle mesure 7 à 20mm de long ; elle est cylindrique, filiforme, plus longue que le mâle de la même espèce et sa surface est lisse.

Il existe, dans les deux sexes, une ventouse orale située à l'extrémité antérieure du corps qui s'ouvre dans l'œsophage et une ventouse ventrale, organe de fixation.

Sauf au moment de la ponte, la femelle est placée dans le canal gynécophore, les organes génitaux mâles et femelles étant situés face à face, permettant ainsi une copulation quasi permanente, au cours des déplacements du couple à contre-courant sanguin.



Vers adulte de *S. haematobium*

Figure 1: Adulte de *S. haematobium*.

Source : <http://arachosia.univlille2.fr/labos/parasito/internat:courspar/hematob.html>

Œufs : Les œufs de *S. haematobium* et de *S. mansoni* sont ovalaires et mesurent 115 à 170 μm de long sur 40 à 70 μm de large. La coque de l'œuf est lisse, épaisse, transparente, et percée de nombreux pores ultramicroscopiques ; elle entoure un embryon cilié et mobile, le miracidium, qui présente, dans sa région postérieure, de nombreuses cellules germinales.

-Les œufs de *S. haematobium* portent, à un des pôles, un éperon terminal caractéristique. Ils sont pondus par paquets, dans la sous-muqueuse vésicale et sont

éliminés avec les urines. La ponte journalière de chaque femelle est d'environ 300 œufs.



Figure 2 : Œuf de *S. haematobium*

Source: <http://arachosia.univlille2.fr/labos/parasito/Internat/courspar/mansoni.html>

-Les œufs de *S. mansoni* présentent, sur une des faces latérales, un éperon proéminent. Ils sont pondus un par un dans la sous-muqueuse intestinale et sont éliminés avec les matières fécales. Chaque femelle pond environs 150 à 200 œufs par jour.



Figure 3 : Œuf de *S. mansoni*

Source : <http://md.ucl.ac.be./stages/hyggtrop/eau/schistidia6.html>

-La ponte journalière de la femelle de *S. japonicum* dépasse 3 000 œufs. Ces œufs, pondus en paquet dans la paroi intestinale, mesurent 70 μ m sur 40 μ m et présentent une petite protubérance latérale.



Figure4 : Œuf de *S. japonicum*

Source : <http://schistosomiasis.ifrance.com/>

-Les œufs de *S. mekongi* sont plus petits et plus arrondis que ceux de *S. japonicum* (60 µm X 50 µm), mais porteurs également d'un petit éperon latéral.

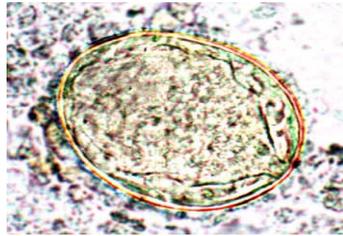


Figure 5 : Œuf de *S.mekongi*

Source : <http://schistosomiasis.ifrance.com/>

-Les œufs de *S. intercalatum* se distinguent des autres œufs de schistosomes infectant l'homme par leur forme grossièrement losangique, en navette, par leur longueur atteignant jusqu'à 250 µm, par l'existence d'un long éperon terminal à épaulement, par leur ponte au niveau de la paroi rectale et enfin par leur coloration rouge, comme les œufs de *S. mansoni*, sous l'action du Ziehl vert de méthyl alors que les œufs de *S. haematobium* se colorent en vert.



Figure 6 : Œuf de *S.intercalum*

Source : <http://schistosomiasis.ifrance.com/>

4.3. Cycle du parasite: [7]

4.3.1. Dans l'eau douce : Les œufs de bilharzies rejetés dans le milieu extérieur avec les selles ou les urines vont éclore dans l'eau, si les conditions favorables sont réunies (température à 25-30°C, ensoleillement, pH neutre). Ils libèrent le miracidium qui va nager à la recherche de son hôte intermédiaire spécifique, un mollusque pulmoné aquatique :

-planorbe du genre *Biomphalaria* pour *S. mansoni*, c'est un planorbe d'eau douce de 1 à 2 cm de diamètre.



Figure 7: *Biomphalaria glabrata*

Source : <http://schistosomiasis.ifrance.com/>

-bulin du genre *Bulinus* pour *S. haematobium* et *S. intercalatum*, c'est un mollusque à coquille globuleuse.



Figure 8 : *Bulinus globosus*

Source : <http://schistosomiasis.ifrance.com/>

- pour *S. japonicum*, ce sont des mollusques operculés, semi-terrestres, les *Oncomelania*



Figure 9: *Oncomelania nasophora*

Source : <http://schistosomiasis.ifrance.com/>

4.3.2. Chez l'hôte intermédiaire : Le miracidium, après avoir pénétré dans le mollusque, bourgeonne, donnant des sporocystes (le miracidium ne survit pas dans l'eau au-delà de 48 h). La suite du développement s'effectue dans l'hépatopancréas et aboutit à la formation des furco-cercaires, larves à queue fourchue de 500 μm de long. Celles-ci s'échapperont du mollusque pour passer dans l'eau avant de pénétrer chez l'hôte définitif. La durée totale du cycle chez le mollusque est d'un mois.

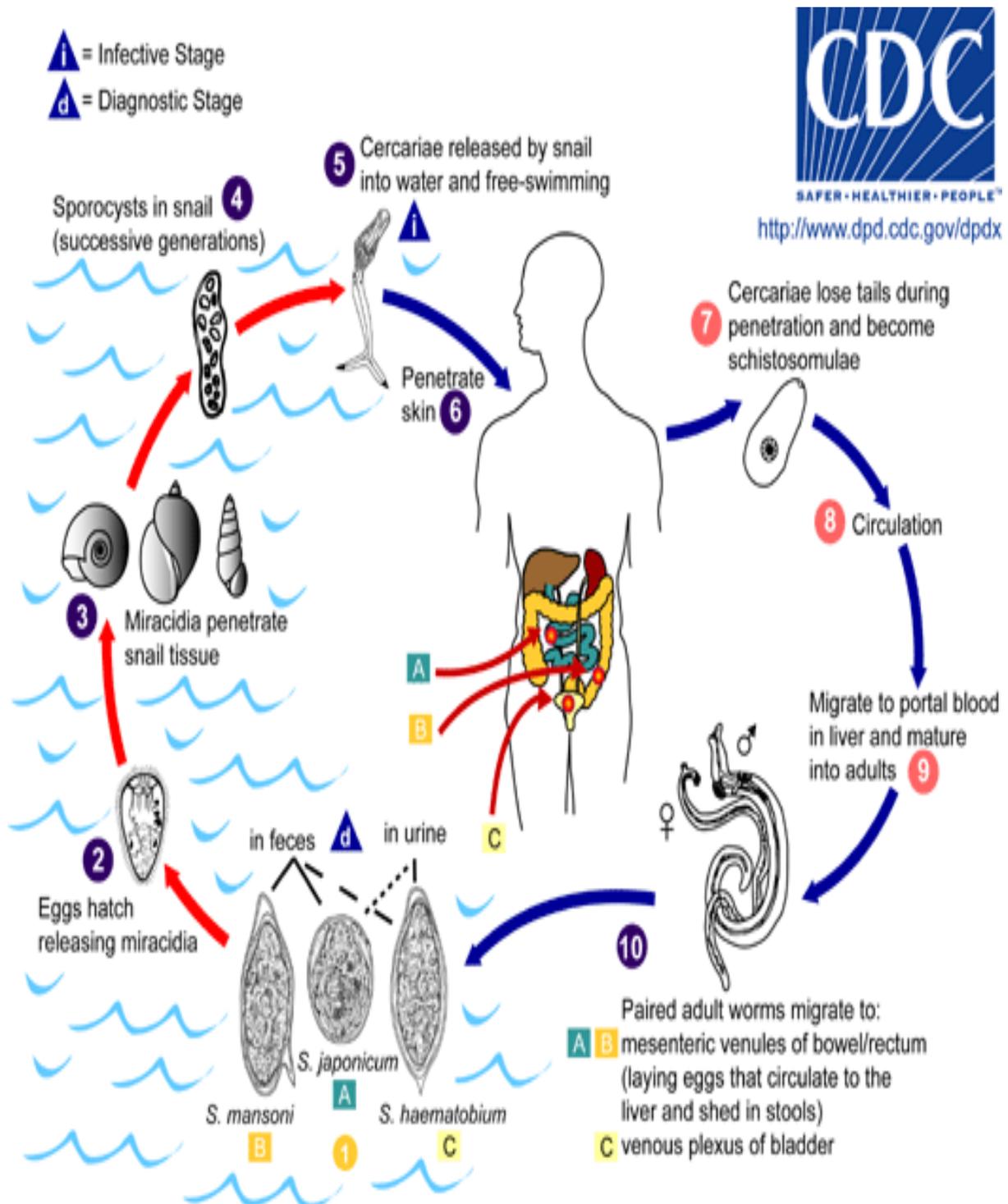
Rappelons que chaque espèce de *Schistosoma* a un hôte intermédiaire spécifique comme indiqué plus haut.

4.3.3. Chez l'hôte définitif : (l'Homme), les œufs issus des vers adultes femelles sont émis à l'extérieur et principalement dans l'eau douce à travers les urines ou les selles. La contamination de l'Homme a lieu aux heures chaudes de la journée, ces moments constituent un facteur favorable à l'émission de plusieurs cercaires par le mollusque (hôte intermédiaire).

La pénétration des cercaires est transcutanée et active au cours des baignades, lessives, lavages des vaisselles, activités récréatives des enfants, maraîchages, etc... que l'homme contracte la maladie.

Après la pénétration les cercaires se transforment en jeunes schistosomes qui avec le courant sanguin gagnent le cœur droit, les poumons puis le foie où ils achèvent leur maturation pour devenir des Schistosomes adultes et se différencier en sexe mâle et femelle.

Leur trajet se termine au niveau des vaisseaux sanguins de la vessie ou des intestins (selon l'espèce) et, l'élimination des œufs s'effectue alors par les excréta.



5. CLINIQUE ET PATHOGENIE DE LA MALADIE : [2 ; 33, 50]

Le plus souvent la maladie reste **longtemps asymptomatique** jusqu'aux complications.

5.1. Phase de pénétration ou phase initiale : Elle correspond à la pénétration transcutanée des furcocercaires, c'est la dermatite cercarienne. Avec prurit, réaction urticarienne localisée qui se voit lors de la première contamination, le plus souvent inapparente (*S. haematobium*) ou fugace (1 à 2 jours pour *S. mansoni*).

L'un des facteurs les plus importants dans la pénétration est le temps écoulé depuis l'élimination des cercaires par le mollusque. Pour celles de *S. mansoni*, l'optimum se situe au cours des premières heures, au bout de cinq heures, la capacité de pénétration est fortement diminuée. La température optimale est de 27° à 28°C. Malgré leur consistance molle, les cercaires percent en 15 minutes l'épaisseur résistante de la couche cornée, grâce à l'action combinée de contraction musculaire et de sécrétions glandulaires en partie enzymatiques.

Une fois la couche cornée perforée, les cercaires migrent en direction oblique à travers l'épithélium, percent la membrane basale et entrent dans le derme et l'hypoderme. On admet qu'elle y reste 4 à 5 jours.

Les réactions tissulaires provoquées par la pénétration des cercaires à travers les téguments et par la migration des Schistosomes sont bénignes chez l'hôte non-sensibilisés, on constate simplement une légère inflammation au niveau de la peau, des poumons et du foie.

Cependant après plusieurs expositions, des papules prurigineuses peuvent apparaître sur la peau et le tableau histologique au point de pénétration est caractérisé par l'œdème, l'infiltration péri-vasculaire du derme et l'invasion leucocytaire de l'épiderme.

Bien que les altérations anatomo-pathologiques et cliniques manifestes soient peu intenses au cours de l'invasion, surtout par comparaison avec les stades plus tardifs, l'influence des parasites immatures doit avoir un retentissement important sur l'état immunologique de l'hôte.

5.2. Phase d'invasion : Elle est contemporaine de la migration et des transformations de la schistosomule. Elle correspond aux réactions de l'organisme mis en contact avec les substances antigéniques et toxiques des vers. Après une période muette de 2 à 10 semaines suivant la contamination, surviennent les manifestations immuno-allergiques : fièvre (> 38°C), signes cutanés (prurit, urticaire, œdème), douleurs (myalgies, arthralgies), toux, parfois dyspnée asthmatiforme, douleurs abdominales, diarrhées, céphalées. Le diagnostic repose sur la notion d'un bain infectant en eau

douce (marigot, fleuve), d'une hyper éosinophilie sanguine (jusqu'à 10 000/mm³) et sur l'immunologie : nombreuses techniques mettant en évidence des anticorps spécifiques (IEF, hémagglutination, ELISA, électro synérèse). Cette phase d'invasion réalise la fièvre des safaris (*S. mansoni*).

5.3. Phase d'état : Elle survient à la fin du cycle, soit environ deux mois après la contamination. Les signes cliniques sont en rapport avec le schistosome en cause.

S. haematobium : la dysurie, la pollakiurie précoces sont diurnes et nocturnes ; des douleurs sus-pubiennes, exacerbées par la miction, obligent parfois le malade à se courber et peuvent donner l'impression " d'urines chaudes ". Hématurie (prononcée) terminale ou totale, indolore ;

S. mansoni : Hépatomégalie, le foie est gros, ferme, lisse, parfois sensible. La rate est également volumineuse. L'hypertension portale est rapidement manifeste : circulation veineuse collatérale abdominale, et surtout hémorragies digestives ; en revanche, l'ictère, l'ascite, les œdèmes apparaissent tardivement.

S. intercalum : est dominée par les manifestations rectales : diarrhées souvent glairo-sanguinolentes, douleurs rectales ou colique, ténésmes, prolapsus ;

S. japonicum et *S. mekongi* : dominée par l'atteinte hépatosplénique, parallèlement, l'état général s'altère : fièvre, amaigrissement, anémie; mais l'atteinte intestinale est au second plan.

- Les vers adultes vivants n'induisent pas de réactions inflammatoires des vaisseaux mais seulement l'apparition progressive d'une immunité relative. Morts, ils provoquent une endophlébite proliférative avec fibrose [2].

- Les œufs sont responsables de la plupart des lésions anatomopathologiques en induisant la formation du granulome bilharzien. Centré par un œuf (d'abord vivant) embolisé dans un capillaire, il est formé d'éosinophiles et d'histiocytes puis de cellules épithélioïdes et géantes, enfin de fibroblastes. L'ensemble évolue vers la sclérose puis la calcification (pour *S. haematobium* surtout). 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 schistosomes. Les 5 espèces de bilharzies sont responsables de lésions au niveau du foie (surtout *S. mansoni*, *S. japonicum* et *S. mekongi*), des poumons, du système nerveux, de la peau, etc [2].

- Les dépôts d'immuns complexes jouent surtout un rôle au niveau des glomérules rénaux et aboutissent parfois à une glomérulonéphrite membraneuse proliférative responsable de syndromes néphrotiques au cours de la bilharziose à *S. mansoni* avec atteinte hépatosplénique. La rate est congestive avec une

fibrose modérée de la pulpe blanche et une hyperplasie réticulo-endothéliale. Infarctus et péricystite sont fréquents. [2]

5.4. Complications : [7]

S. haematobium :

-la surinfection bactérienne est responsable de cystites, de péricystites suppurées, surtout d'infections ascendantes. La lithiase vésicale n'est pas exceptionnelle.

-Prostatite, salpingite, endométrite, stérilité

-pneumonie, myocardite

-myélite, épilepsie

S. mansoni : Hypertension portale grave, et, l'hypersplénisme est responsable d'anémie, de leucopénie, de thrombopénie.

S. japonicum et *S. mekongi* : l'hépatosplénomégalie, qui rapidement grave, il s'y ajoute souvent un ictère, des hémorragies digestives par hypertension portale, des phénomènes d'hypersplénisme, de l'ascite, des œdèmes.

5.5. Signes biologiques d'orientation : (*S. haematobium* et *S. mansoni*)

S. haematobium:

-hématurie variable ;

-anémie variable ;

-éosinophilie au stade toxémique (30-80%) avec une hyperleucocytose, qui régresse en période d'état ;

S. mansoni :

-hyperleucocytose variable avec augmentation de la VS

-éosinophilie précoce dès la migration larvaire, maximale au stade toxémique (35-75%), s'atténuant dès les pontes, vers le 3ème mois,

-élévation des protéines sériques (surtout immunoglobulines).

6. FACTEURS IMMUNITAIRES : [2, 50]

Il est à noter que tout individu de toutes races, tous âges et tous sexes est susceptible de développer une infection. Une immunité acquise permettrait quant à elle d'empêcher un certain nombre de schistosomule d'atteindre l'âge adulte, mais les survivants finissent par développer une résistance contre cette immunité [50].

La pénétration du cercaire provoquera une première réponse immunitaire faisant intervenir les éosinophiles et l'IgG. Les IgG mettront les éosinophiles et les schistosomiles en contact, les éosinophiles produiront une substance qui causera la destruction des schistosomules par lyse. Puis une seconde où le mécanisme lui impliquera les IgE et les macrophages. D'autres schistosomules seront détruits durant

leur migration. Les parasites atteignant leur maturité, auront leurs surface couverte par des antigènes (CSA : circulating soluble antigen) presque identique à ceux de leurs hôtes si bien qu'il fut démontré que leur présence dans le plasma de patients infecté par le *S. haematobium* et *S. mansoni* confirme la présence du parasite à l'état adulte [51].

La présence d'œufs vivants dans les tissus est indispensable à la formation des granulomes qui sont en rapport avec une réaction d'hypersensibilité retardée spécifique de l'espèce de parasite et faisant intervenir les lymphocytes T. Elle est induite par la sécrétion des antigènes solubles d'œufs provenant des glandes du miracidium qui forment avec les anticorps spécifiques des précipités péri-ovulaires (substance éosinophile de Hoeppli). L'antigène soluble d'œufs stimule les lymphocytes T dont certains sécréteront des lymphokines inhibant la migration des macrophages et des éosinophiles ; cet antigène sensibilisera aussi les éosinophiles et entraînera la synthèse d'anticorps IgE.

Comme autres facteurs immunitaires, il a été constaté que le régime alimentaire a une certaine influence sur l'efficacité du traitement lors d'infection schistosomienne. Par exemple des rats ayant une carence de vitamine A résisterait moins bien à une infection à *S. mansoni* ; et ; une carence en cystéine, sélénium et vitamine E pourrait même être à l'origine de l'aggravation de l'infection.

Chez le rat un régime faible en protéine retarderait la croissance et le développement de *S. mansoni* tandis que chez l'homme un régime riche en protéine induirait une réponse immunitaire plus rapide chez un patient lors d'une infection à *S. mansoni*. Ceci implique qu'un végétarien répondrait moins bien à un traitement qu'un non-végétarien [50].

Le traitement peut lui aussi être à l'origine de l'apparition d'une immunité partielle sur près d'une année. Mais cette résistance à l'infection s'accroît avec l'âge de l'individu [52].

7. DIAGNOSTIC : [9, 7, 10]

7.1. Diagnostic Parasitologique (direct)

Il nous permet de déterminer un marqueur de morbidité direct de la bilharziose: la charge parasitaire qui nous renseigne sur l'intensité de l'infection.

7.1.1. La filtration de l'urine : Préconisée pour le diagnostic des infestations à *S. haematobium*. C'est une méthode d'analyse parasitologique qualifiée de directe. Elle consiste à prélever 10ml d'urine chez un sujet qui n'aurait pas été préalablement

astreint à une diète. Dans le cadre des activités de recherche d'œufs de *S. haematobium*, il est conseillé au patient de faire un effort physique (bilharziurie d'effort) afin de décrocher les œufs coincés dans la muqueuse vésicale avant que le patient n'urine dans le récipient. Et il reste entendu que le récipient utilisé doit être propre et stérile. Une fois le prélèvement recueilli, il s'agira alors de le faire passer (à l'aide du piston d'une seringue) à travers un papier filtre contenu dans un cylindre sous vide. Après cette opération, nous pouvons nous débarrasser de l'urine ainsi filtrée. Le papier filtre sera séché, puis coloré par une solution de ninhydrine (composé aromatique utilisé comme révélateur des acides aminés), il sera alors passé au microscope pour lecture afin d'identifier les œufs du parasite responsable en cas d'infection.

Cette observation permettra de mettre en évidence en cas d'infection, la présence d'œufs pondus par le parasite en cause [74].

7.1.2. Le Kato-Katz : Cette technique est préconisée pour le diagnostic des infestations à *S. mansoni*, *S. japonicum* et *S. intercalum*. Parlant du Mali, il s'agira surtout de *S. mansoni*. Cette méthode est qualifiée de directe, elle consiste à prélever 24g de selle. Le mode opératoire permettant la réalisation de cette méthode consiste à déposer un poids de matière fécale sur un lame et à recouvrir cette dernière d'un papier cellophane après avoir étalé la masse fécale sur tout l'espace compris entre la lame et le cellophane, la lame sera chauffée par une lampe de 100w, ainsi la glycérine et la chaleur éclairciront cette préparation rendant visible les œufs lors de l'observation à l'aide du microscope.

Cette observation permettra la mise en évidence d'œufs pondus par le parasite en cause en cas d'infection [73].

7.2. Biopsie de la muqueuse rectale :

La Biopsie de la muqueuse rectale est un examen fondamental lorsque l'examen parasitologique est négatif. Toutes les espèces de Schistosomes émettent des œufs qui vont s'emboliser dans la muqueuse rectale.

Les lésions rectales basses sont dues à *S. haematobium*.

La biopsie est transportée dans du sérum physiologique. Après éclaircissement, on recherche les œufs et l'importance de l'infestation est estimée.

L'efficacité thérapeutique peut être appréciée par l'étude de la vitalité des œufs (par le test de l'éclosion des miracidiums à 25°C dans l'eau distillée pendant 15 minutes) [7].

7.3. Diagnostic Immunologique (indirect) : A la phase toxémique (avant les 50^{ème}-60^{ème} jours) il est le seul à apporter une réponse positive. Il est aussi utilisé comme test de contrôle thérapeutique [18].

Les facteurs immunologiques en plus des facteurs de transmission peuvent jouer un rôle important dans la régulation des populations de schistosomes. En 1989, une

approche assée prometteuse a permis de résoudre la problématique de la détection d'infections dues aux Schistosomes en général par analyse par une méthode enzymatique (ELISA) du degré d'inflammation du aux œufs plutôt qu'à la quantité d'œufs dans les excréta [30].

Parmi les méthodes immunologiques utilisées nous pouvons citer: [19]

7.3.1. La réaction péri-cercarienne de Vogel et Minning : Faire agir le sérum du malade sur des furcocercaires vivantes : le décollement de la membrane péricercarienne traduit la présence d'anticorps ; cette méthode sensible permet un diagnostic précoce, dès les premières semaines de la parasitose;

7.3.2. La réaction circum-ova de Olivier Gonzales : Confronte le sérum du patient à des œufs vivants qui s'entourent de précipités digitiformes si la réaction est positive;

Ces deux premiers nécessitent des laboratoires très spécialisés (ce qui élève considérablement leurs coûts), et rend leur réalisation quasi-impossible dans des zones fortement endémiques (pays pauvres) où les laboratoires sont très peu équipés.

7.3.3 L'immunofluorescence indirecte sur coupe à la congélation de schistosomes adultes.

Il est commode et assez spécifique si l'on exige des taux égaux ou supérieurs au 1/200;

7.3.4. La réaction de fixation du complément : qui utilise comme antigène un extrait délipidé de *S. mansoni*.

Elle est intéressante dans les infestations récentes, mais souvent négative dans les bilharzioses chroniques ; il en est de même de l'hémagglutination;

7.3.5. L'immunoélectrophorèse : met en évidence plusieurs arcs de précipitation, dont **l'arc 4 spécifique**;

7.3.6. La recherche et le dosage des antigènes circulants : Cette méthode fut établit afin de surmonter les imperfections de la méthode conventionnelle (parasitologique) et la technique de détection des anticorps [12].

Elle est basée sur la méthode sandwich par ELISA. Ces antigènes sont mis en circulation dans l'hôte par la régurgitation des éléments non digérés dans le tractus intestinal du parasite ; il s'agit plus particulièrement du CCA et du CAA. Sa présence peut être mise en évidence dès la 3eme semaine suivant l'infection [17].

Bien que cette méthode soit très performante, nous évoluons depuis quelques années vers la détection d'infections très légères (ou mono-sexuelles), et à un suivi très discret de la chimiothérapie. Afin de répondre à ces exigences des études ont alors été

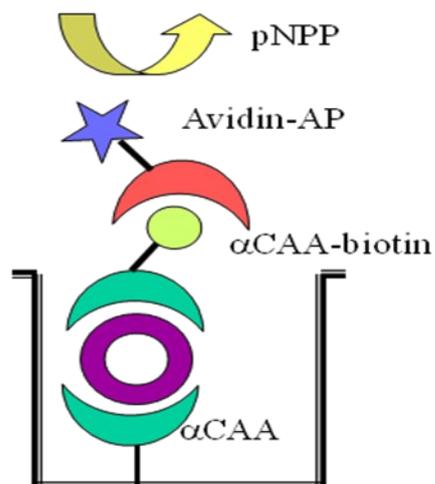
entreprises pour élever au maximum la sensibilité de cette technique tout en gardant le même principe qu'est celui de l'ELISA.

Une étude menée en 1995 au Mali, confirme l'efficacité de cette méthode par rapport à la méthode parasitologique dans la détection de *S. haematobium* en zone endémique, et conclue en demandant une amélioration et une simplification de la méthode afin qu'elle soit plus facilement applicable sur le terrain dans le cadre d'une étude de masse [13].

Pour répondre à cette exigence les bandelettes ont fait leur apparition. Leurs avantages sont les suivants : [49]

- faciles à utiliser
- rapides
- faciles à lire
- très précis
- présentent des infections actives
- longues durée de vie
- pas d'équipements
- peu coûteux

Au laboratoire : avec un sérum de prétraitement



Sur le terrain (les bandelettes) :

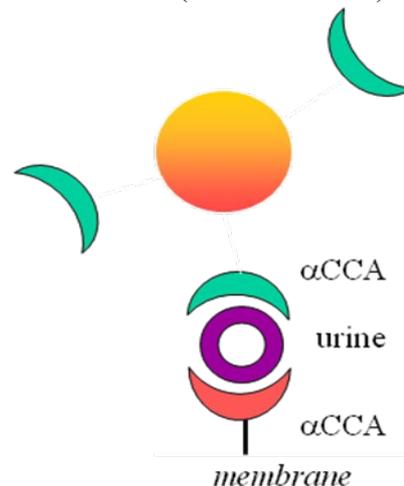


Figure 10: Principe du CCA sur les bandelettes

Source: Presentation Govert van Dam WHO 2008

Une autre étude a conclu, que bien qu'efficace dans la mise en évidence de *S. mansoni* et même du *S. japonicum*, que ces bandelettes déterminants le CCA dans son format actuel n'avait pas une sensibilité suffisante dans le diagnostic de *S. haematobium* par rapport au test conventionnelle.

En outre, lors d'études réalisées à Zanzibar, au Niger et au Burkina Faso, les bandelettes CCA n'ont pas pu détecter des cas de schistosomiases urinaires actives bien qu'elles donnent des résultats très prometteurs dans la détection des schistosomiases urinaires [12, 76].

7.3.7. Ensuite, de nouveaux outils d'évaluation des schistosomias par rapport au taux de morbidité ont commencé à voir le jour ; il s'agira de déterminer le degré d'inflammation due à la réponse immunitaire par la présence d'œufs dans le tractus urinaire en évaluant la quantité de protéine dérivée d'éosinophiles cationiques [15]. Dans le même but, la quantité de neurotoxine dérivée d'éosinophiles sera aussi déterminée. La protéine Eosinophile Cationique (ECP), la Neurotoxine dérivée de l'Eosinophile (EDN) et la Protéine Basique Majeure (MBP) sont des médiateurs protéiques importants dérivés d'éosinophiles activés. L'ECP et l'EDN se trouvent dans la matrice des granules dans les éosinophiles, tandis que la MBP se trouve au cœur des granules. L'ECP et l'EDN appartiennent à la superfamille des ribonucléases A. L'ECP et la MBP ont une cyto-toxicité élevée. Ces trois protéines sont des protéines très cationiques avec un pH 10,8-10,9. Des éosinophiles activés jouent un rôle important dans la réponse asthmatique tardive et dans l'inflammation asthmatique des voies respiratoires.

L'éosinophilie étant précoce (dès la migration larvaire), l'ECP est alors sécrété par des éosinophiles activés, l'ECP est un marqueur d'activation d'éosinophile et de dégranulation car une fois les éosinophiles activés il y a sécrétion d'ECP puis dégranulation [14].

Et ces analyses seront effectuées par la méthode ELISA.

Les nouveaux outils permettant une meilleure évaluation du taux de morbidité due aux schistosomias, en plus permettent un diagnostic rapide et plus fiable. Ces nouveaux outils rentrent aujourd'hui dans le cadre du suivi de traitement des patients parasités [29].

La détection d'ECP lors d'infection à *S. haematobium* a fait d'ECP un marqueur valable d'inflammation de la vessie. Elle permet de révéler très tôt une inflammation ce qui fait d'elle un bon marqueur de morbidité. L'ECP lors d'une évaluation, comme marqueur de morbidité chez des femmes présentant une schistosomiase vaginale, a révélé une très forte concentration chez les femmes atteintes de schistosomias [37].

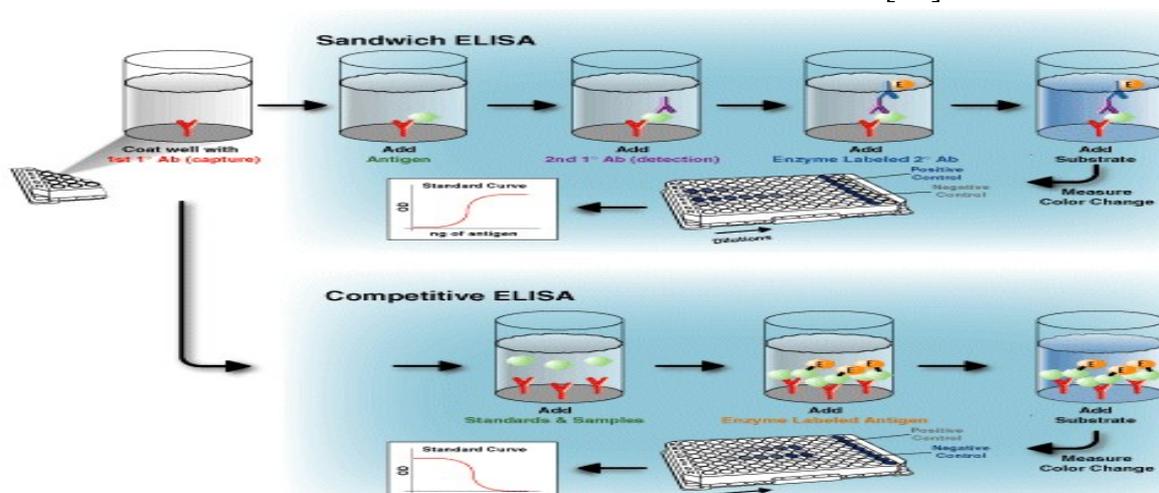


Figure 11: Schéma du principe sandwich

Source : <http://Millipore - ELISA kits, Enzyme-linked immunosorbent assay and Metabolic disease.htm>

Cette méthode a l'avantage d'être rapide, précise, et l'utilisation d'antigène standard purifié permet de déterminer la quantité presque absolue d'antigène contenue dans l'échantillon analysé.

7.4. Diagnostic échographique : Elle consiste à visualiser des pathologies internes au niveau abdomino-pelvien à l'aide d'un appareil ultrasonographique (Aloka SSD-500, Germany) avec une imprimante Sony muni d'une sonde courbe 3,5MHz.

Cette technique a pour avantage, la visibilité directe des lésions sur l'organe. Elle permet aussi de visualiser certaines complications telle que l'hypertension portale et l'hydronephrose [79, 80, 81]. En outre l'OMS a financé un Comité d'Experts afin de produire un protocole standard de l'examen ultrasonographique pour la quantification de la morbidité lors d'infection à *S. haematobium* et *S. mansoni* [81, 82].

Le problème que pose l'utilisation de l'ultrasonographie lors des programmes de contrôle est le coût élevé des équipements. Il nécessite aussi des techniciens bien formés avec un background en médecine et en radiologie. Il est à espérer que les progrès de la technologie permettront bientôt la réalisation peu coûteuse de l'examen ultrasonographique dans les pays à endémie schistosomienne [81].

7.5. Les autres examens biologiques : [18]

7.5.1. L'hyper éosinophilie:

Elle ne peut constituer un argument déterminant chez les malades porteurs de multiples parasitoses. Elle n'a qu'une valeur d'orientation. Elle est très élevée en phase toxémique, elle se stabilise ensuite entre 2 et 15 p. 100. Sous l'effet du traitement, elle augmente brusquement, atteignant vers le 15e jour des taux de 40 à 50 p. 100, puis revient à la normale en quelques semaines ou mois.

7.5.2. La protéinurie :

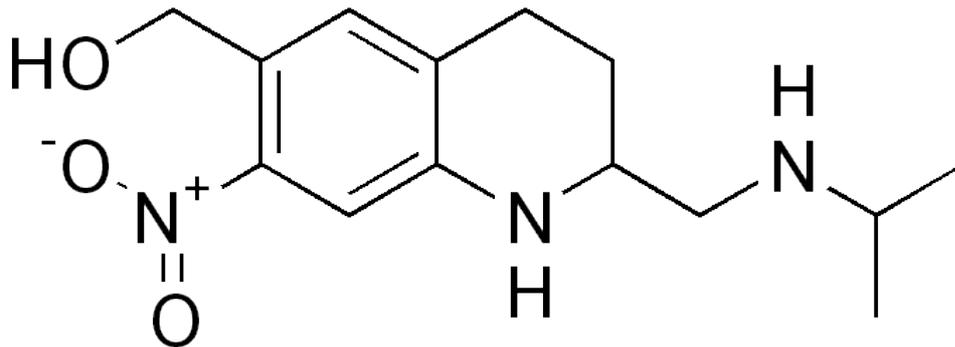
Elle serait d'origine vésicale dans la bilharziose, associée ou non à l'hématurie, elle peut à la rigueur servir de test d'orientation ou de dépistage dans une enquête de masse, elle ne peut en aucun cas constituer un argument diagnostique.

8. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE : [20; 21; 11;2]

8.1. Traitement : Pour réduire la morbidité due aux schistosomiasés et aux géo-helminthes chez les enfants d'âge scolaire par le traitement chimiothérapeutique [59], un réseau mondial dénommé « Initiative de Contrôle des Schistosomoses » (ICS) a été créé en 2001 pour soutenir l'action des programmes de contrôle de la schistosomose à travers toute l'Afrique au sud du Sahara [60]. La prévention et la réduction de la morbidité dues aux schistosomes explique la place de choix qu'occupe la chimiothérapie de masse dans de nombreux programmes à travers le monde [61].

Le praziquantel est actuellement la drogue de choix dans le traitement contre les schistosomes infectants l'homme, et il ya de forte chance qu'il le demeure les années à venir. Il y a aussi l'oxamniquine, qui est le deuxième médicament retrouvé dans le commerce contre les schistosomes, mais son activité s'arrête au *S. mansoni* [43, 44, 45, 46].

L'oxamniquine (Vansil, Mansil)



Formule brute : C₁₄H₂₁N₃O₃

Source : <http://en.wikipedia.org/wiki/Oxamniquine>

Avec globalement de bons résultats en matière d'efficacité et d'innocuité, ces dernières années, le prix de l'oxamniquine n'a pas baissé autant que celui du praziquantel. Ainsi ce dernier (maintenant moins coûteux), pourrait remplacer l'oxamniquine. Cela conduirait à une situation dangereuse car le praziquantel resterait le seul médicament disponible contre la schistosomiase, avec de très graves conséquences en cas d'apparition d'une résistance du parasite. On a considérablement progressé sur la voie de l'élucidation du mode d'action de l'oxamniquine, mais il est peu probable que ces résultats soit exploités pour la mise au point d'analogues, du fait de l'absence d'incitations à la recherche de nouveaux anti-schistosomes [21].

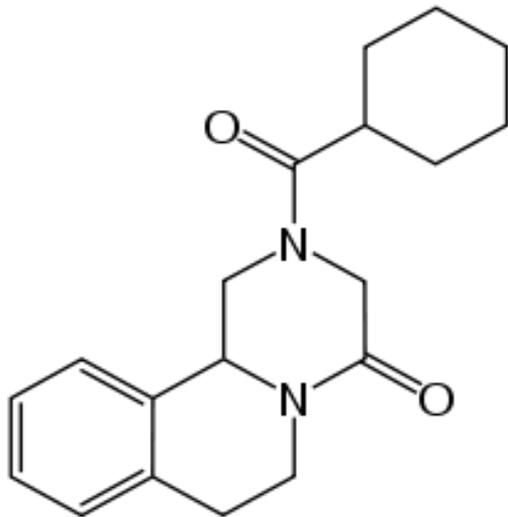
Structure : Il s'agit d'un dérivé de la série des aminométhyl-tetrahydro-quinolines

Indications : C'est un médicament très actif contre les *S.mansoni* mais pratiquement sans action contre *S.haematobium* et *S.japonicum*

Posologie : Il est recommandé 15mg/kg/j en une seule cure.

Effets indésirables : Ce sont des troubles neurologiques, vertiges convulsions, somnolence et troubles digestifs [11].

Le praziquantel (Biltricide)



Formule brute : C₁₉H₂₄N₂O₂

Source : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Praziquantel>

Le praziquantel, utilisé contre les schistosomiasés en général, son efficacité fut établie chez toutes les espèces de *Schistosoma* au niveau de différents hôtes depuis les années 70.

Actuellement le traitement de choix pour la schistosomiase, cette préférence étant essentiellement due à son coût raisonnable et à son efficacité contre toutes les espèces de schistosomes. Une dose orale unique de 40 mg/kg suffit généralement pour donner des taux de guérison comprise entre 60 et 90 %, et une baisse de 90 à 95 % du nombre moyen d'œufs excrétés. Outre le fabricant allemand initial, E. Merck/Bayer, le praziquantel est également produit en Corée et en Chine, et est formulé dans plusieurs pays dont l'Égypte et le Brésil. Malgré les récentes baisses de prix, le praziquantel est loin d'être disponible partout sur le terrain, et dans plusieurs pays d'Afrique, les personnes atteintes de schistosomiase n'ont pas accès au traitement lors des phases précoces de la maladie, ce qui entraîne un risque de morbidité grave par la suite [20]. Cette chimiothérapie dont la principale stratégie est l'administration d'une dose unique de 40mg/kg de poids, tant à céder la place à l'administration de la double dose suite aux limites observées dans la lutte contre la maladie par l'administration d'une dose unique.

La double administration d'une dose de 40mg/kg avec un intervalle de 2 semaines s'est montrée beaucoup plus efficace que la dose unique, et cette efficacité s'est encore plus prononcée au bout de 6 mois après l'administration du traitement contre la bilharziose urinaire à *S. haematobium* [46, 65].

Structure : Il s'agit d'une pyrazino-iso-quinoline, série chimique dont l'efficacité contre les cestodes et les trématodes a été découvert en 1972.

Mécanisme d'action : Sur le parasite, ce médicament agit par paralysie spastique, puis vacuolisation du cytoplasme et lyse. En d'autres termes, il endommage les téguments du vers adulte entraînant ensuite sa mort. Il a aussi pour effet d'exposer les antigènes du vers à sa surface provoquant une réponse immunitaire plus prononcée et beaucoup plus spécifique [66, 67, 68].

Pharmacocinétique :

-Absorption : elle est rapide, la concentration sérique est obtenue au bout d'une heure. La demi-vie varie de 1h à 3h.

-La diffusion : La diffusion tissulaire est bonne, la plus grande partie est diffusée dans le foie et dans les reins, il passe aussi à travers le placenta. Il n'existe pas d'accumulation spécifique du praziquantel dans les organes.

-Métabolisme : Entièrement métabolisé dans l'organisme ; extensivement au niveau du foie, de la veine à la rate.

Les produits de l'hydroxylation constituent les métabolites majeurs tel que : 2-4hydroxycyclo-hexyl 1,2,3,6,7,11b hexahydr-4 pyrozino 2,1 a isoquinoline 4 one.

-Élimination : L'élimination du PZQ est complète et aucune liaison irréversible aux constituants de l'organisme n'a été observée. Néanmoins quelques traces sont observées dans le sérum au bout de 24h après une administration orale. Elle se fait en grande partie par les reins [37].

Indication : Il est actif contre la plupart des trématodes parasite de l'homme :

-Les bilharzies : *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. japonicum* et *S. intercalum*.

-Les douves : Douves du foie (*Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*) et douve pulmonaire (*Paragonimus westermani*).

Il est donc indiqué contre les bilharzioses et les distomatoses.

Posologie : Elle varie selon la nature du parasite, l'âge et le poids du malade, entre 20 et 30mg/kg, en cure généralement unique, en plusieurs prises réparties dans la journée.

Précaution d'emploi : En cas de cysticercose cérébrale, une hospitalisation est nécessaire (la lyse du parasite pourrait entraîner un accident neurologique) ; en cas de cysticercose oculaire, le produit ne doit pas être utilisé.

Effets indésirables : Ce sont des troubles digestifs et des manifestations allergiques [11].

Malgré de nombreuses stratégies de traitement dans des régions endémiques, l'intensité de réinfection après la chimiothérapie reste élevée chez les enfants et les adolescentes, ce chiffre ne diminue que chez les adultes suggérant que l'acquisition de la résistance à l'infection peu se développer graduellement avec l'âge [71].

La résistance à l'infection que l'on observe dans ces régions a été corrélée un certain nombre de réponses immunes spécifiques. Par exemple, dans les études de suivi, après la chimiothérapie on note que la réduction de l'infection était associée aux IgE, aux éosinophiles, aux IL-4 et IL-5 et au gamma interféron (IFN- γ) [69, 70].

À l'heure actuelle, le contrôle de la schistosomiase au Mali s'opère essentiellement par le biais de traitements à base de praziquantel (PZQ) [21].

D'autres modèles génériques du praziquantel sont sur le marché aujourd'hui à un coût moyen inférieur à \$0,30 [72].

Autres anti-bilharziens :

Récemment des dérivées de l'artémisinine (arthemether et artesunate) ont montré une activité importante sur différentes espèces de schistosomes en Chine. Leur activité serait plus concentrée sur les formes immatures des parasites [47, 48].

8.2. La prophylaxie : Il est possible de distinguer les modes de lutte suivants :

- lutter contre le parasite adulte en traitant les malades (la chimiothérapie de masse dans les zones endémiques),
- lutter contre les mollusques à l'aide de produits molluscides (la lutte anti-vectorielle)
- lutter contre les stades aquatiques du parasite,
- limiter les contacts entre l'homme et l'eau contaminée, ou en intervenant sur l'environnement (l'IEC, l'éducation pour la santé afin de sensibiliser les populations sur tous les risques que peuvent constituer les marres, cours d'eaux et sources sur leurs santé).

Comme pour la plupart des parasitoses, on ne peut envisager l'éradication de la maladie qu'en intervenant à plusieurs niveaux du cycle (une seule méthode ne suffit pas). Et dans le cas de la bilharziose, l'éradication ne pourra être obtenue que dans des aires géographiques limitées et préalablement définies [38].

9. SITUATION DES SCHISTOSOMIASES AU MALI :

De part sa grande diversité éco-climatique, 13 zones écologiques peuvent être distinguées au Mali à savoir le Sahara, Sahel, Office du Niger, Baguineda, Delta, Sélingué, Manantali, Soudan, Nord-Soudan, Plateau Dogon, Fleuve Sénégal, Fleuve Niger et Bamako.

Les résultats d'une enquête menée dans 323 villages dans toutes les régions de Mali (Bamako y compris) sont représentés dans le tableau ci-dessous:

Taux de prévalence de l'infection à S.haematobium selon l'âge dans les différentes zones éco climatiques

	2-6 ans	7-14 ans	15-24 ans	≥25 ans	Taux standardisé
Office du Niger	65.5	83.5	69.7	45.6	62.9
Baguinéda	15.7	45.1	40.0	17.2	28.1
Plateau Dogon	42.3	73.4	68.1	38.3	53.1
Fleuve Sénégal	63.3	81.6	70.1	39.3	59.4
Fleuve Niger	30.9	70.8	46.0	24.1	41.8
Sélingué	18.0	22.9	27.0	32.7	26.8
Manantali	20.9	35.1	32.1	10.1	21.9
Soudan	1.3	5.3	4.1	1.7	3.0
Nord-soudan	10.6	11.5	14.2	3.8	8.4
Sahel	16.3	33.3	24.3	9.7	19.6
Sahara	25.7	38.8	20.3	7.7	21.3
Delta	15.8	34.5	28.3	10.8	20.8
Bamako	23.7	50.5	42.6	23.6	34.0
Total	26.1	43.7	35.4	19.5	27.8

Source : [28]

Les plus forts taux de prévalence sont observés le long des fleuves Niger et Sénégal, au niveau du plateau Dogon, dans la zone Office du Niger faisant des régions de Kayes, Ségou et Mopti des zones cibles. Dans certaines zones présentant un taux de prévalence standardisé peu élevé, des prévalences très élevées ont été observées dans certains villages. Selon cette étude, ces chiffres s'expliquent par des activités économiques liées à l'eau dans ces villages.

La tranche d'âge 7-14 ans, qui est constitué d'enfants d'âge scolaire, présente le taux de prévalence le plus élevé parmi les autres groupes d'âges. D'autres études ont établi que le taux de prévalence spécifique à cette tranche d'âge peut être considéré comme un indicateur du niveau d'endémicité de la bilharziose urinaire dans une communauté [39].

Le traitement de masse communautaire au praziquantel sera guidé par le diagnostic communautaire actif à partir d'examen d'urine chez les enfants de 7 à 14ans [28]. Cette stratégie a permis de réduire de façon significative le taux de prévalence et l'intensité de l'infection due à *S.haematobium* et *S.mansoni* dans certains villages de la zone de l'Office du Niger. Toutefois, en dépit du traitement, les taux demeuraient toujours supérieurs à 20% chez les sujets âgés de 6-19 ans.

L'objectif de la politique appliquée au MALI est de contrôler la morbidité et de réduire la mortalité liée à la bilharziose par des stratégies de traitement adaptée avec le PZQ. Dans 60 établissements de soins situés dans quatre régions différentes et après interview des agents de santé qui y travaillaient, la présence de *S.haematobium* et de *S.mansoni* a été signalée aux taux respectifs de 83 % et 37 %. Les patients présentant les symptômes de l'infection à *S.haematobium* peuvent s'attendre à recevoir un diagnostic approprié et un traitement qui réponde aux recommandations de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) en la matière. Quant aux patients présentant des symptômes liés à l'infection à *S.mansoni*, ils ont moins de chances de recevoir un diagnostic correct. Le coût relativement élevé des traitements et la rareté avec laquelle les personnes souffrant de bilharziose intestinale cherchent à se faire soigner exige la mise en œuvre d'une politique plus économique et plus attractive visant à promouvoir un système clinique de gestion des cas [21].

Une étude menée courant 2005 dans la région de Ségou sur des sujets adultes (16ans et plus), avait conclu que la bilharziose urinaire est presque 2 fois supérieure à la bilharziose intestinale dans cette région et que la morbidité liée aux bilharzioses n'était pas très élevée du faite de l'efficacité de la chimiothérapie et de la pratique de l'échographie (dans la détection des lésions) dans la mise en œuvre du programme de lutte contre les schistosomiasis [25].

L'implication de cette endémie dans la survenue de cancer urologique, n'est pas négligeable. Les résultats radiologiques et examens anatomopathologiques d'une étude récente a permis de souligner le problème de santé publique que représente le cancer de la vessie au Mali [23].

CHAPITRE II : METHODOLOGIE

1. LES LIEUX D'ETUDE:

1.1. INRSP: Elle s'est déroulée à l'Institut National de Recherche en Santé Publique, dans un laboratoire (que nous avons spécialement aménagé) de l'Unité de Recherche sur les Schistosomiasés et autres Maladies Tropicales Négligées.

L'Institut National de Recherche en Santé Publique, sous la tutelle du Ministère chargé de la Santé, fut créé par la Loi 81-17/AN-RM du 31 Mars 1981. Il est issu de la fusion de l'Institut National Biologie et du Laboratoire Central de Biologie Humaine. Il prend le statut d'établissement public à caractère administratif en 1993 avant de passer à celui d'établissement public à caractère scientifique et technologique par l'Ordonnance N-06-007/P-RM du 26 février 2006.

Il a pour mission de promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique appliquée en santé publique.

L'institut comprend 5 départements et une agence comptable. Nous avons les Départements suivants:

- Département de Santé communautaire,
- Département diagnostic et recherche biomédicale,
- Département médecine traditionnelle (centres collaborateurs de l'OMS),
- Département formation,
- Département administratif et du personnel.

Les départements œuvrent dans les domaines suivants : maladies infectieuses, génétiques, néoplasiques, médecine sociale, santé familiale, éducation sanitaire, hygiène du milieu, biologie clinique appliquée à la nutrition et aux affections endémio-épidémiques, toxicologie médicale, bromatologie, socio-économie, médecine et pharmacopée traditionnelles.

A cet effet il intervient dans la lutte contre de nombreuses maladies au Mali, et participe à travers ses résultats à la mise à jour de la base de données de l'OMS dans la lutte contre de nombreuses maladies en Afrique sub-saharienne.



Ses principaux axes de recherche et perspectives sont :

- Renforcer les capacités des équipes de recherche à travers un partenariat Sud-sud et Nord-Sud,
- Développer des nouveaux MTA,
- Développer la recherche dans les domaines suivants :
 - *la nutrition communautaire, la nutrition et le VIH, la nutrition en milieu scolaire,
 - *des stratégies d'amélioration de la prise en charge des maladies tropicales négligées (schistosomias, trachome, filariose lymphatique, onchocercose, vers intestinaux),
 - *du recouvrement des couts et la participation communautaire,
 - *de l'amélioration du dépistage du cancer, de la tuberculose, des hépatites et des multiples sensibilités due à la chimiothérapie.

Son site web est le suivant : www.inrspmali.org

Le service de Parasitologie situé à Bamako-coura, est dans la même cour que les services d'Histo-embryologie, de Cytogénétique et de Biochimie.

Dans le service de Parasitologie, nous retrouvons l'Unité de Recherche sur les Schistosomias et autres MTN, cette unité comprend : 2 spécialistes en parasitologie, 1 biologiste, 1 assistant médical, 3 techniciens de laboratoire, 1 aide laborantin, 1 manœuvre et des étudiants en stage.

Parmi les principales missions de cette unité, nous pouvons citer :

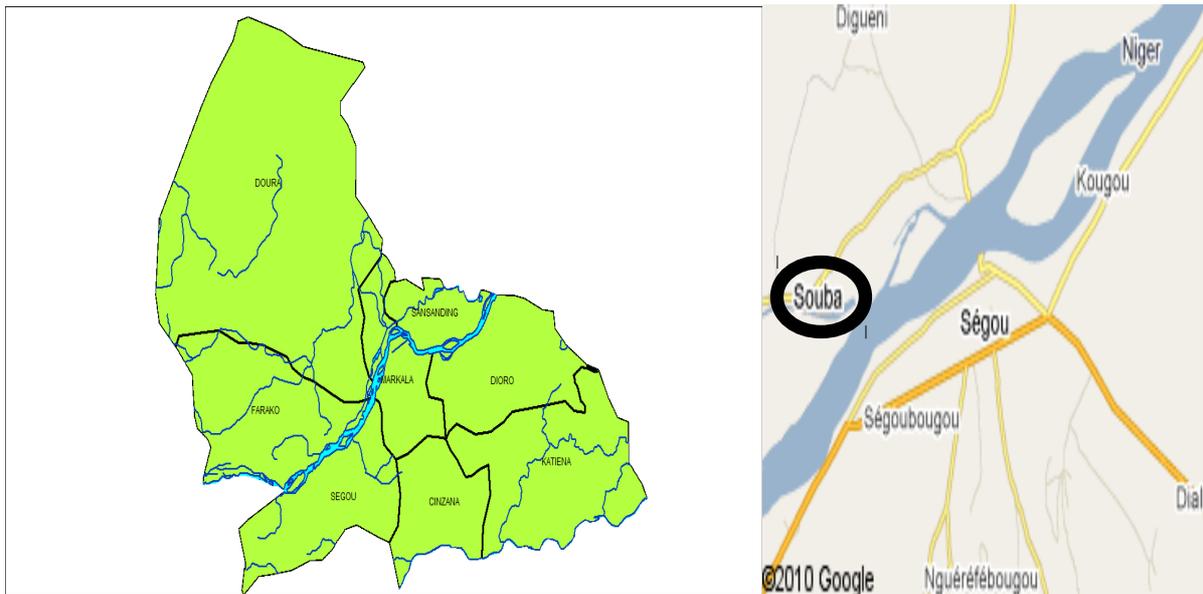
- l'initiation et l'entreprise d'activités de recherche en vue de contribuer à l'amélioration des stratégies de lutte contre les schistosomias et autres MTN,
- la contribution au développement de moyens plus efficaces de prévention, de diagnostic et de traitement,
- la fourniture d'informations d'évidence scientifiques facilitant la mise en œuvre des programmes de lutte contre les schistosomias.

1.2. Zone de collecte des échantillons : Les échantillons ont été récoltés dans trois villages de la Commune de Souba, dans le Cercle de Ségou situé dans la Région Ségou.

Situé à 240 kilomètres de la capitale « Bamako », Ségou est le chef lieu de la 4eme région de la République du Mali. Elle s'étend sur une superficie de 64.947 km² (soit 5% du territoire).

Elle est traversée par le fleuve Niger. En plus des Régions de Sikasso, Tombouctou et Mopti, elle fait aussi frontière avec la Mauritanie et le Burkina Faso.

Ségou comprend 7 cercles divisés en 118 communes, regroupant 2148 villages, dont celle de Souba:



Kalabougou

Situé environ à 6 kilomètres de Ségou, Kalabougou est un village qui s'étend le long du fleuve Niger. Avec une population majoritairement constituée de bambara, dense et structurée.

Il a été remarqué au cours de la collecte des échantillons, que les puits et les eaux stagnantes sont généralement utilisés pour l'arrosage des cultures maraichères tandis que les eaux de forage sont utilisées pour la consommation.

Une forte activité agricole, et de poteries y ont été remarquées.

Selon le personnel du CSCOM de Souba, les soins médicaux pour la population de Kalabougou se font dans le CSCOM de Souba, située à environ 5 kilomètres de Kalabougou et qui abrite le CSCOM.

Les cas graves sont référés à Ségou à l'Hôpital Régional pour une meilleure prise en charge.

Kaladangan

Petit village de Ségou situé aussi le long du fleuve Niger. Il est parfois considéré comme partie intégrante de Ségou car ils ne sont séparés que par le fleuve. L'accès au village nécessite l'utilisation du bac pour la traversée. C'est un village de transit. Il reçoit les populations de tous les villages de la commune lors de la foire hebdomadaire de Ségou.

La population est hétérogène et toutes les ethnies sont confondues et migrantes.

Dans ce village, se trouvent des Somonos, Bozos, Bambaras ; des Sonrhaï et des Peulhs (moins représentés). La pêche constitue l'activité principale.

Selon les sources sanitaires dans la zone, les eaux des puits et du fleuve constituent les principales sources d'eau. Selon les mêmes sources, très peu de latrines sont conformes aux normes et réglementations sanitaires. De ce fait la plupart des besoins de défécation se font dans le fleuve lors des baignades.

La proximité avec la ville de Ségou, explique le fait que les soins sont administrés aux populations par les structures sanitaires de Ségou.

Guenidaga

Tout comme Kaladangan et Kalabougou, il se s'étend le long du fleuve Niger à environ 1 kilomètre de Kaladangan. L'ethnie majoritaire est Bozo, la population est très dense. Les femmes et les enfants sont les plus représentés. La migration de la population est très fréquente dans ce village, elle dépend beaucoup de la saison de pêche car les bozos ont comme principale activité la pêche.

Selon les sources sanitaires dans la zone, il n'y a pratiquement ni puits ni forages ; l'approvisionnement en eau potable est strictement liée à l'eau du fleuve.

Très peu de latrines sont conformes aux normes et réglementations.

Tout comme à Kaladangan, les malades n'ont qu'à traverser le fleuve pour atteindre les structures de Santé de Ségou.

2. TYPE ET PERIODE D'ETUDE : C'est une étude transversale à passage unique dans chacun des 3 villages.

Elle a duré 8 mois (d'Avril 2008 à Novembre 2008)

3. ECHANTILLONNAGE :

Il s'agit d'un échantillonnage exhaustif concernant **167** individus :

Sur les 167 individus :

-**118** individus ont donnés des urines (pour l'analyse immunologique) et congelée immédiatement à « -20°C ».

-**109** individus ont produits des selles (pour la recherche de parasites, *S. mansoni* en particulier)

-**40** individus ont produits à la fois des selles et des urines.

Critères d'inclusion : Etaient inclus tout individu présent et consentant.

Critères de non-inclusion : Absence de renseignements suffisants dans le la fiche individuel (en annexe); et l'absence de quantité suffisante d'urine pour la réalisation des différents examens.

Au total, **110** individus étaient inclus dans cette étude, genre, âge et ethnie confondus sur les **167** enrôlés.

4. CONSIDERATIONS ETHIQUES :

L'étude a été approuvée par le Comité d'Ethique de l'INRSP. Les populations des différents villages ont été informées de manière détaillée sur les objectifs visés par cette étude, et ses éventuels avantages sur l'amélioration de la santé des populations. En ce qui concerne les enfants, nous avons d'abord cherché l'assentiment des parents. La participation aux différentes étapes de cette étude a été volontaire les participants n'ont subi aucune pression, ils étaient libres d'interrompre leur participation à tout moment. La non-participation à l'étude ne causait aucun préjudice aux populations. Les clauses de confidentialité ont été respectées : aucun nom de personne ayant participé à l'étude ne sera diffusé ou publié.

5. MATERIELS ET TECHNIQUES UTILISEES :

5.1. Technique parasitologique :

Basée sur la recherche des œufs à partir des selles et des urines collectées.

5.1.1. Méthode de Kato-Katz : [64, 73]

Un récipient propre et stérile a été utilisé pour collecter les selles. Cette méthode consiste en la recherche des œufs dans les selles.

-Matériels et réactifs :

- +Microscope binoculaire
- +Solution éclaircissante
- +Lames porte-objet
- +Marqueurs indélébiles
- +Tamis a mailles fines
- +Spatule en plastique
- +Calibreurs en matière plastique
- +Rectangles de cellophane de 3/2cm immerges au moins 24h dans une solution de vert malachite
- +Pincés brucelles
- +Papier buvard
- +Gants en caoutchouc
- +Détergent (eau de javel)
- +Cuvettes
- +Compteurs manuels des œufs

-Mode opératoire :

***Examen des selles :** Un fragment de selles est prélevé à l'aide d'une spatule, puis déposé sur le tamis. Une pression est exercée sur le tamis à l'aide de la spatule tout en raclant de manière à faire passer les selles à travers les mailles. Ceci a pour but d'éliminer les grosses fibres et les gros débris alimentaires. De l'autre côté du tamis, les selles sont recueillies à l'aide d'une autre spatule. Le trou du calibre est rempli et appliqué contre une lame porte-objet, ensuite le calibre est retiré après avoir soigneusement rasé la surface des selles. A l'aide de pincés (brucelles), un rectangle de cellophane immergé dans la solution éclaircissante (glycérol 100ml, Vert de malachite 1ml à 3%, eau distillée 100ml) au moins pendant 24h est déposé sur le cylindre de selles.

La préparation est retournée en appliquant la cellophane contre du papier buvard, puis à l'aide de la main, de manière à étaler uniformément le prélèvement. La lame est à nouveau retournée et le numéro indicatif y est inscrit.

***Lecture microscopique :** Une demi-heure plus tard, toute la surface de la lame est lue. Tous les œufs sont comptés. L'intensité de la charge parasitaire (Y) est donnée par la formule suivante : $A \times 24g = Y$ (**exprimé en nombre d'œufs/g de selles**). A étant le nombre d'œufs comptés sur une préparation.

5.1.2. Méthode de filtration des urines : [63, 74]

Le récipient pour recueillir le prélèvement doit être propre et stérile. Avant de procéder à la filtration de chaque urine recueillie, il a d'abord été prélevé 2ml ou 5ml

(dépendant de quantité recueillie) pour les examens immunologiques, car la filtration pourrait débarrasser les urines de certaines protéines faussant ainsi les résultats immunologiques.

-Matériels et réactifs :

- +Microscope binoculaire
- +Papier filtre (Wathman 2,5cm de diamètre)
- +Chambre de filtration
- +Seringue 10cc
- +Lames porte-objet
- +Stylos
- +Gant en caoutchouc
- +Pincettes
- +Tubes en caoutchouc pour les urines
- +Une bassine pour recueil des urines
- +Paires de ciseaux
- +Ninhydrine à 3%

-Mode opératoire :

***Examen des urines :** Sur le papier filtre est inscrit le numéro d'identification individuel. Le papier filtre est placé dans la chambre de filtration de manière à ce que le numéro soit directement en contact avec les urines à filtrer. Il faut bien homogénéiser les urines en remuant les tubes. A l'aide de la seringue on aspire 10ml d'urine en maintenant le dispositif à la verticale. Ensuite, on enlève la seringue de la chambre de filtration, remonter le piston de la seringue afin de la remplir d'air, puis réadapter la seringue à la chambre et chasser l'air à travers le filtre. Après avoir dévissé la chambre de filtration, on recueille le papier filtre à l'aide de pincettes (brucelles) avant de le déposer sur un millipore en plastique en prenant soins d'orienter vers le haut la face numérotée du papier filtre. En ce moment, il faut déposer sur le papier filtre une goutte de ninhydrine et faire sécher sur une table dégagée.

***Lecture :** Toute la surface du filtre est lue. Tous les œufs sont comptés à l'aide de compteurs manuels. Soit A le nombre d'œufs ; Y, l'intensité de la charge parasitaire (exprimée en nombre d'œufs par 10ml d'urine) est donnée par la formule suivante :
 $Y=A/10\text{ml (d'urine)}$

Pour les urines, en plus de la filtration renseignant sur la charge parasitaire, 2 autres indicateurs de morbidité liés à la bilharziose urinaire ont été déterminés : la macro-hématurie et la micro-hématurie.

-La macro-hématurie : Marqueur de morbidité de la bilharziose urinaire, il s'agit d'une observation macroscopique du prélèvement afin de déceler la présence visible de sang dans le prélèvement d'urine.

-La micro-hématurie : Marqueur de morbidité de la bilharziose urinaire, il permet de confirmer la présence d'hématies dans le prélèvement d'urine à l'aide de bandelettes réactives.

5.2. Technique ultrasonographique (échographie) : Cet examen permet de déceler certaines lésions (indicateur de morbidité direct). L'échographie a été réalisée sur tout échantillon, la vessie en réplétion, il s'agissait d'une échographie abdomino-pelvienne réalisée sur un appareil de type Aloka SSD-500 (Germany) avec une imprimante Sony muni d'une sonde courbe 3,5MHz. Tout ceci conformément au protocole standard de l'utilisation de l'échographie dans l'étude de la morbidité de la schistosomiase, lors de l'atelier de Niamey [75, 82].

5.3. Technique immunologique(ELISA) : [25, 27]

Le principe de cet examen consiste à détecter l'ECP humain avec une limite de détection minimale de 0,125 ng/ml. Il faut noter qu'il ne présente pas de réaction croisée avec l'EPX. Dans les puits recouverts d'anticorps monoclonaux anti-ECP humains, les échantillons qui doivent être mesurés sont incubés. Après le lavage, des anticorps polyclonaux anti-ECP humains conjugués à la peroxydase sont ajoutés aux micro-puits et incubés. Après un autre lavage, le substrat de peroxydase est mélangé avec le chromogène (OPD+H₂O₂) et incubé pour une période supplémentaire. Puis une solution d'acide minéral (H₂SO₄) est ajoutée à chaque puits afin d'arrêter la réaction enzymatique et stabiliser la couleur développée. Ensuite la densité optique (O.D.) de chaque puits est mesurée avec un lecteur de microplaque. La concentration en ECP est calibrée d'une courbe de calibration basée sur des calibrateurs de référence (les standards).

5.3.1. Matériels et réactifs nécessaires:

Microplaques (96 puits) sensibilisés avec anticorps anti- ECP humains et anti-EPX humains (12 barrettes à 8 micro-puits)

Calibrateur ECP (0,1% d'azide de sodium (NaN₃), préservatif, 1% de sérum de Chèvre) 0,75mL x 6 flacons

Diluant sérum (0,1% d'azide de sodium (NaN₃), préservatif, 1% de Sérum de Chèvre) 1 x 20 mL

Conjugué (Anticorps polyclonaux anti-ECP humains couplés à de la peroxydase, 1% de l'albumine bovine; prêt à l'emploi) 1 x 12 mL

Solution de lavage (concentré 10 x) 1 x 100 mL

Substrat (TMB/H₂O₂; prêt à l'emploi) 1 x 20 mL

Solution d'arrêt (0,5 mol/L H₂SO₄; prêt à l'emploi) 1 x 20 mL

Instruction manuel 1

Contrôle positif (0,1% d'azide de sodium; Préservatif, 1% de Sérum de Chèvre) 0,75 mL x 1 flacon

Contrôle négatif (0,1% d'azide de sodium; Préservatif, 1% de Sérum de Chèvre) 0,75 mL x 1 flacon

5.3.2. Matériels et équipement nécessaires

- Lecteur de micro plaque
- Laveur de plaque ou flacon pour le tampon de lavage
- Pipette adaptable
- Pipette multicanaux
- Plaque en polyvinyle à 96 puits (pour la préparation de la première réaction)
- Réservoir des réactifs
- Eau distillée
- Verre gradué d'un litre pour la préparation de la solution de lavage

5.3.3. Mode opératoire:

Préparation des Réactifs

Solution de lavage: Diluer 1600 mL du Concentré de Lavage avec 8400 mL d'eau distillée.

Les autres réactifs sont prêts à l'emploi :

- Anticorps,
- Biotine,
- Avidine,
- OPD,
- H₂O₂.

Préparation des prélèvements

Les prélèvements (urines et selles) ont été placés 4h après les prélèvements dans des cryotubes de 2ml ou 5ml (dépendant de la quantité recueillie) en plastique puis ils seront conservés au congélateur à une température de -20°C jusqu'à l'analyse de détection des ECP/EPX par ELISA.

Les urines ont été directement prélevées et mises de cotés avant la filtration des urines (dans le cadre de l'examen parasitologique).

Quant aux selles, après le calibrage 20 à 50mg collecté sur de petit spatules et places dans des tubes en plastiques pour être gardé au congélateur a -20°C.

5.3.3.1. Stockage

Utiliser des échantillons frais. Aliquoter chaque échantillon dans un nouveau tube en plastique, et garder en dessous -20°C si nécessaire. Eviter des cycles de congélation et de décongélation successifs.

5.3.3.2. Préparation des différentes solutions:

- **PBS (Phosphate Balanced Salt solution)** c'est la solution mère :

- **NaCl : 80g/l**
- **KCl : 2,0g/l**
- **NaHPO₄ : 14,4g/l**
- **KH₂PO₄: 2,0g/l**

Faire le mélange dans un litre d'eau distillée, après une homogénéisation procéder à l'addition de 9l d'eau distillée afin d'obtenir 10l de solution mère à la concentration recherchée soit 10x.

- **Solution de revêtement (permet la fixation des anticorps monoclonaux) :**
Elle est obtenue en diluant 100ml de PBS dans 900ml d'eau distillée plus 4ml (0,25%) de NaN₃ (préservatif) afin d'obtenir 1l de solution.
- **Solution d'extraction I (solution d'extraction des protéines dans les urines et dans les selles):** Elle est obtenue par l'addition d'un détergent (le CTAB) à la solution mère (PBS), 10gCTAB/l de PBS afin d'obtenir 1l de solution.
- **Solution d'extraction II (des protéines seulement dans les selles):** Elle est obtenue en diluant 5g (EDTA, un détergent)/l, 7,5ml (TritonX-100)/l, 0,25%NaN₃ dans un litre de solution mère (PBS) afin d'obtenir 1l de solution d'extraction.
- **Solution tampon (de dilution):** Elle est obtenue en diluant 1g(CTAB)/l, 7,4g(EDTA)/l, 1ml (Tween20)/l et 0,1% de NaN₃.
- **Solution de lavage :** Elle est obtenue en diluant 10ml de Tween20 dans 1,6l de PBS, dont l'ensemble sera ensuite dilué dans 8,4l d'eau distillée, afin d'obtenir 10l de solution de lavage.
- **H₂SO₄ (0,5M):** A partir d'une solution d'acide sulfurique (1M) à 98% et d'une densité de 1,84. Pour obtenir la molarité recherchée 0,5M, des calculs mathématiques permettront de poser que pour 1l d' H₂SO₄ (0,5M) il faut 27,17ml de la solution d' H₂SO₄ disponible (à 98%), cette quantité sera diluée dans de l'eau distillée afin d'obtenir en tout 1l d' H₂SO₄ (0,5M).

5.3.5.4 Extraction des échantillons :

-**Selles** : Apres avoir retiré les cryotubes (contenant les prélèvements), ajouter 2ml de solution d'extraction II, puis 1h de temps après, remettre les cryotubes au congélateur, 24h après, ressortir les même cryotubes puis ajouter 1ml de la solution d'extraction I.

Laisser les prélèvements dehors à la température ambiante du laboratoire pendant 1h avant de procéder au mixage de chacun des tubes Centrifuger les tubes à une vitesse de 2000m/s pendant 10minutes. 100microL du surnageant sera recueilli dans de petits tubes classés dans des boites.

- **Urines** : Beaucoup plus simple et rapide, ajouter 100microL d'extraction solution I à 100microL d'urine (recueillie sur le terrain).

5.3.5.5. Dilution des échantillons extraits :

Diluer chaque échantillon avec la solution tampon, le principe est le même aussi bien pour les urines que pour les selles, seulement :

-**pour les selles** : ajouter 900microL de solution tampon aux 100microL recueilli dans les petits tubes à l'étape précédente, pour une dilution 1 :480, afin d'obtenir une dilution de 1 :4800, prélever 100microL de la première dilution la mettre dans un autre tube et y ajouter 900microL de solution tampon et ainsi de suite.

-**pour les urines** : Diluer 200microL de la solution obtenue (à l'étape précédente) dans 800microL de solution tampon donnant ainsi une dilution à 1 :10, prélever 100microL de la première dilution (1 :10), mettre dans un autre tube et y ajouter 900microL de solution tampon et ainsi de suite.

□ **Protocole d'analyse**

Chaque échantillon est pipeté dans 2 puits (sur la même ligne dans la colonne voisine).

Le remplissage des plaques se fait de haut en bas (A-H) pour chaque série de 2 colonnes en allant de la gauche vers la droite (3-12).

*Seuls les standards sont appliquées dans les colonnes 1 et 2 avec une concentration croissante du haut vers le bas à partir de la ligne B, car les 2 premières colonnes de la ligne A sera le témoin (rempli par la solution tampon) afin d'établir la valeur de référence pour la lecture des densités optiques.

Application des anticorps monoclonaux dans les puits : Diluer le kit anticorps dans la quantité de solution de revêtement correspondant au kit puis appliquer 100microL dans chacun des puits de la microplaque. Recouvrir les puits avec un couvercle adhésif et incuber au frigidaire (à 4°C) pendant 48h avant utilisation.

Préparation des Standards: La dilution des standards se fait avec la solution tampon.

-**ECP** : à partir d'un kit de 1800microL (avec une conc de 1000pg/microL) procéder à 7 dilutions successives de 2 en 2 : genre 1000 puis 500 puis 250...etc permettant ainsi d'aller d'une conc de 1000 à 15.61pg/microL

-**EPX** : à partir d'un kit de 1800microL (avec une conc de 2000pg/microL) procéder à 7 dilutions successives de 2 en 2 : genre 1000 puis 500 puis 250...etc permettant ainsi d'aller d'une conc de 2000 à 31.25pg/microL

PHASE 1. (Incubation de l'échantillon)

(1)Ajouter les standards préparés (dans les 2 premières colonnes de la plaque); (2) Ajouter 100 µL des échantillons préparés (à partir de la colonne C) à une plaque de

préparation en polyvinyle à 96 puits dans le même ordre que celui du test. Puis transférer 100 µl de chaque échantillon dans le micro-puits recouvert d'anticorps avec une pipette multicanal et un puits de mélange.

(1) Incuber à 4°C pendant la nuit.

PHASE 2. (Lavage)

Aspirer ou éliminer le contenu des puits. Remplir les puits avec la solution de lavage et aspirer complètement ou éliminer le liquide. Laver les puits 3 fois avec la solution de lavage utilisant une bouteille de lavage. Si un laveur automatique est utilisé, laver 3 fois.

* Eliminer la Solution de lavage superflue en tapant doucement ou en aspirant.

PHASE 3. (Incubation du conjugué)

(1) Transférer la solution de conjugué (Prêt à l'emploi) dans le réservoir. Après avoir éliminé complètement la solution de lavage, pipeter 100 µl du réactif du Conjugué (la biotine peroxydase) dans chaque puits avec une pipette multicanal.

(2) Incuber 120 minutes à température ambiante (20~25°C) sur une plaque vibrante.

PHASE 4. (Lavage)

Laver les microplaques selon la procédure de la PHASE 2 (afin de débarrasser définitivement des puits tous les éléments non-liés en sandwich : anticorps-antigène-anticorps conjugué).

PHASE 5. (Incubation du substrat)

(1) Transférer le réactif de Substrat(Avidine) dans le réservoir. Après avoir éliminé complètement la solution de lavage, pipeter 100 µl du réactif de Substrat dans chaque puits avec une pipette multicanal. (2) Incuber 30 minutes à température ambiante (20~25°C) sur une plaque vibrante.

*Après l'addition du substrat, l'ELISA sera mise sous-tension, pour qu'il soit prêt à l'emploi pour la lecture.

PHASE 6. (Lavage) :

Laver les microplaques selon la procédure de la PHASE 2 mais cette fois nous laverons les plaques 6fois au lieu de 3fois pour s'assurer que les complexes (anticorps-antigènes-anticorps conjugué-avidine) restent fixes dans les puits.

PHASE 7. (Addition d'un substrat et du colorant)

Transférer l'OPD et l'eau oxygène dans une quantité d'eau distillée correspondante puis placer le mélange dans un réservoir. Pipeter 100 µl de cette solution dans chaque puits avec une pipette multicanal.

*la révélation commence dans les 10minutes qui suivent l'addition de la solution.

PHASE 8. (Arrêter de la réaction)

Transférer la solution d'arrêt (H₂SO₄ à 0.5N) dans un réservoir. Pipeter 50 µL de la solution d'arrêt dans chaque puits avec une pipette multicanal.

PHASE 9. (Lecture)

Lire l'absorbance de chaque puits à 492 nm (avec une référence de 620 nm) avec un lecteur à double faisceau. Le Reader Elisa Multiscan était connecté à un ordinateur et le logiciel d'analyse utilisé était l'Ascent software for Multiscan.

* La lecture doit être effectuée dans 30 minutes après avoir arrêté la réaction.

PHASE 10. (Calcul des résultats)

Calculer la valeur d'absorbance moyenne de chaque calibrateur. Faire le graphique sur papier semi-log et construire une courbe de calibration [Absorbance sur l'axe verticale, concentration (en ng/ml) sur l'axe horizontale].

Etablir la concentration en ECP des échantillons en multipliant la valeur lue sur la courbe de calibration par le facteur de dilution (p.e. x 10, 100 ou 1000 selon la dilution effectuée).

6. VARIABLES UTILISEES :

Les paramètres étudiés ont été :

- Sociodémographiques : village; âge, sexe, ethnie;
- Quelques renseignements cliniques (symptomatologie);
- Les aspects parasitologiques: hématurie, macrohématurie, microhématurie, intensité de la charge parasitaire;
- Les aspects cliniques : les pathologies (lésions) observées par échographie;
- Immunologiques : ECP, EPX.

7. METHODES DE SAISIE, DE TRAITEMENT ET D'ANALYSE

STATISTIQUE DES DONNEES :

Les données ont dans un premier temps été saisies sur le logiciel Excel de MS office 2007, puis ont été transférées sur le logiciel SPSS « version 16 ».

L'association entre les charges ECP/EPX et les différentes variables de morbidités liées à la bilharziose urinaire a été déterminé avec le test de corrélation de Pearson à un degré de signification de 1% ($p=0,01$).

De cette analyse, ont découlé les résultats portés sur le chapitre suivant « Résultats ». Mais tous les histogrammes ont été réalisés avec Excel.

CHAPITRE III : RESULTATS

1. RENSEIGNEMENTS CLINIQUES:

Résultats de l'ensemble des symptômes liés aux schistosomiasés notées au niveau des populations grâce au questionnaire.

Tableau I : Fréquence des symptômes liés aux schistosomiasés (N=167)

Symptômes	Cas recensés	Pourcentage (%)
Hématurie	66	39,5
Douleur pelvienne	57	34,1
Dysurie	70	41,9
Douleur abdominale	75	44,9
Diarrhée	25	15
Sang dans les selles	24	14,3

Les symptômes rencontrés sont principalement : les douleurs abdominales suivies de la dysurie et de l'hématurie.

2. ANALYSES PARASITOLOGIQUES ET EXAMEN ECHOGRAPHIQUE:

-Tableau II-1 : Prévalences globale de *S. haematobium* et *S. mansoni* (N=167)

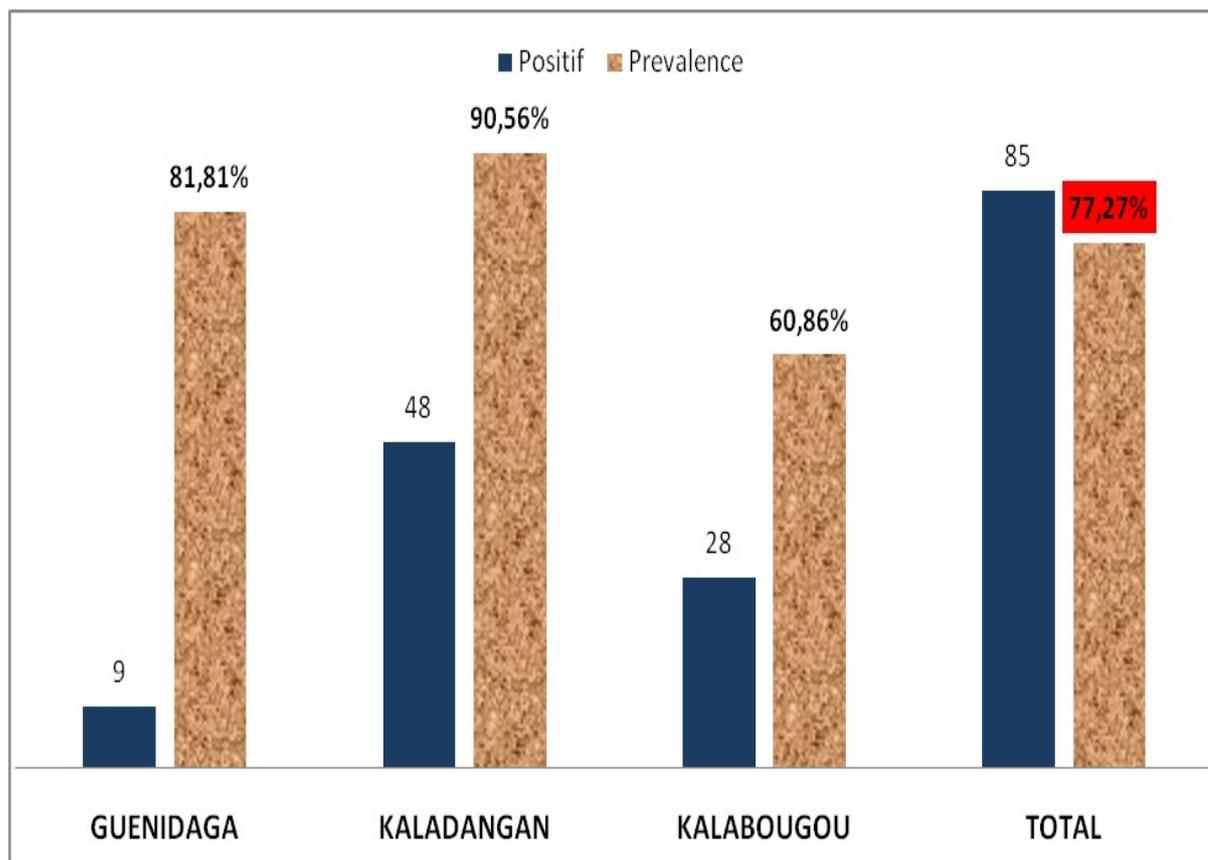
	Fréquence Npositif (Prévalence)	Total
<i>S. haematobium</i>	115 (68,86%)	167
<i>S. mansoni</i>	15 (8,98%)	167

Soit une prévalence globale de 68,86% pour *S. haematobium* et de 8,98% pour *S. mansoni*

-Tableau II-2 : Résultats d'indicateurs de morbidité dans les 3 villages (N=110)

Variable	Npositif	Prévalence (%) Total
Macrohématurie	23	21,1 N=109
Microhématurie	56	51,4 N=109
Lésions	22	20 N=110

L'échantillon (N=110) a présenté une micro-hématurie de 51% contre 21% de cas pour la macro-hématurie et 20% de cas pour les lésions observées.



Grphe 1 : Prévalence de *S. haematobium* dans chacun des 3 Villages (N=110) Avec une prévalence globale de 77,27% pour notre échantillon (N=110), Kaladangan a présenté la prévalence la plus élevée avec 90,56%, suivi de Guenidaga puis de Kalabougou.

Tableau II-3 : Fréquences de *S. haematobium*, de *S. mansoni* et de coïnfection (*S. haematobium* et *S. mansoni*) (N=110)

	Fréquence Npositif	Prévalence
<i>S. haematobium</i>	85	77,3
<i>S. mansoni</i>	12	10,9
Co-infection (<i>S. haematobium</i> et <i>S. mansoni</i>)	11	10

Sur les 110 individus de notre échantillon, 11 cas de co-infections à *S. haematobium* et à *S. mansoni* ont été observés.

-Tableau II-4 : Intensité de la charge ovulaire de *S. haematobium* dans les 3 villages

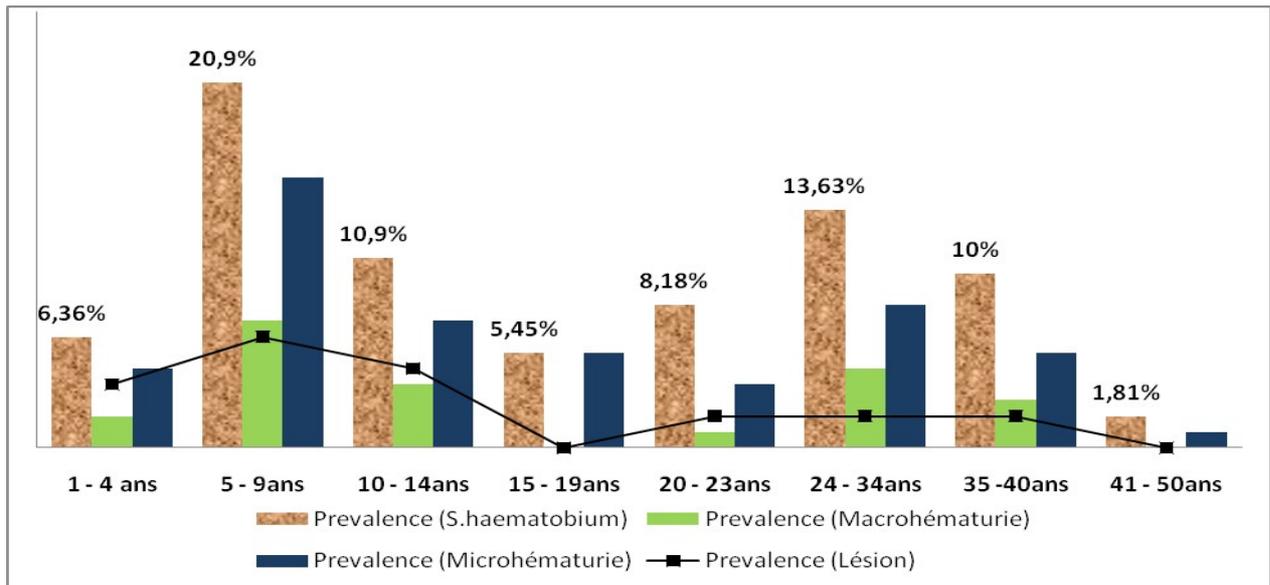
Intensité de la charge ovulaire de <i>S. haematobium</i>	Fréquence	Pourcentage
0	25	22,7
1 - 100	62	56,4
101 - 400	17	15,5
Plus de 400	6	5,5
Total	110	100,0

En plus du fait que 77,4% de notre échantillon excrète au moins un 1 œuf il est bon de souligner que 21% ont une charge ovulaire supérieure à 100.

-Tableau II-5 : Intensité de la charge ovulaire de *S. mansoni* dans les 3 villages

Intensité de la charge ovulaire de <i>S. mansoni</i>	Fréquence	Pourcentage
0	98	89,1
1 - 100	10	9,1
101 - 400	1	,9
Plus de 400	1	,9
Total	110	100,0

Contrairement à *S. haematobium*, une charge ovulaire beaucoup moins élevée fut observée.



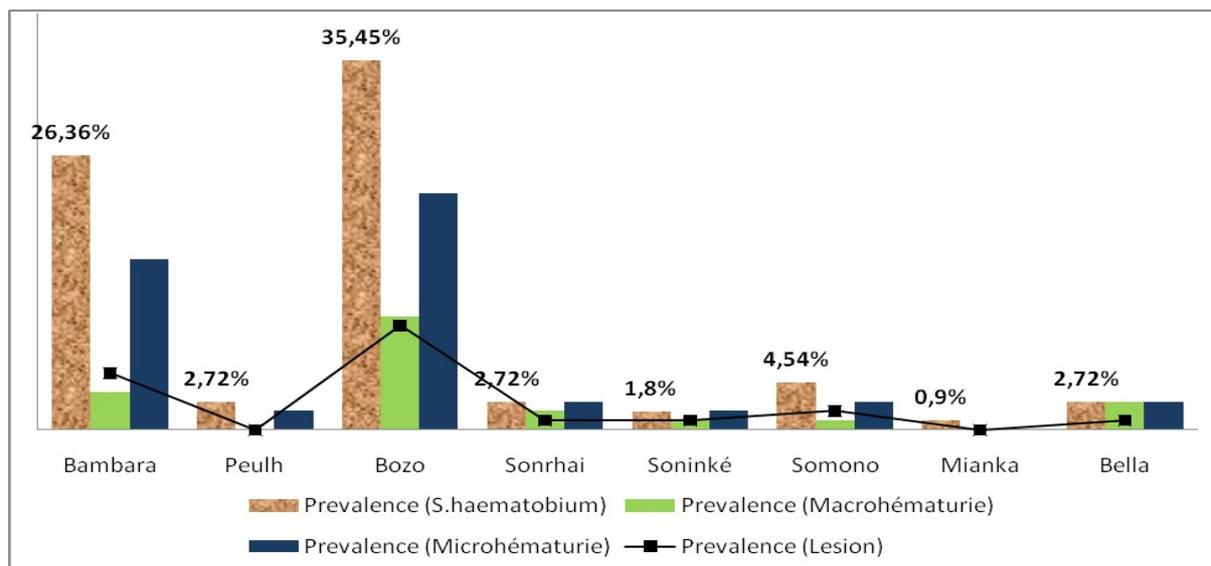
Graph 2 : Répartition de la prévalence de *S. haematobium* selon 4 indicateurs de morbidité par tranche d'âge dans les 3 villages (N=110)

Nous observons les 2 pics de prévalence d'abord chez le 5-9ans puis chez les 24-34ans.

Tableau II-6 : Répartition de la prévalence de *S. haematobium* par Genre dans les 3 villages (N=110)

		Fréquence Npositif	Répartition de la prévalence
Genre	Masculin	41	37,3%
	Feminin	44	40%
Total		85	38,6%
			p= 0,1

Avec un échantillon majoritairement constitué du genre féminin, nous avons observés une prévalence presque'identique.

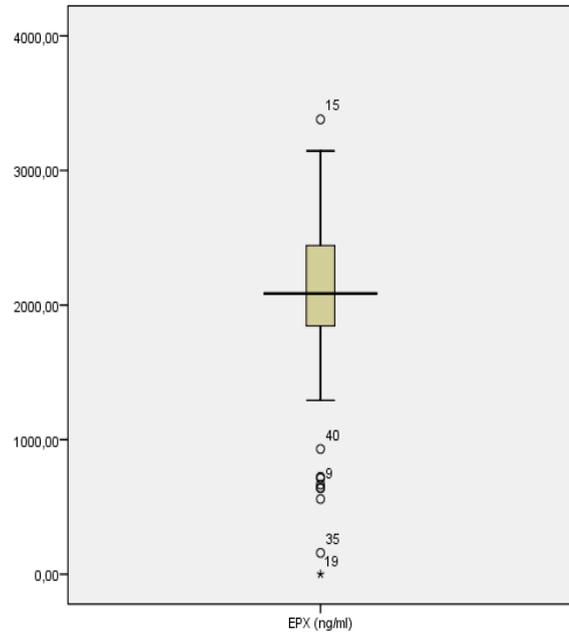
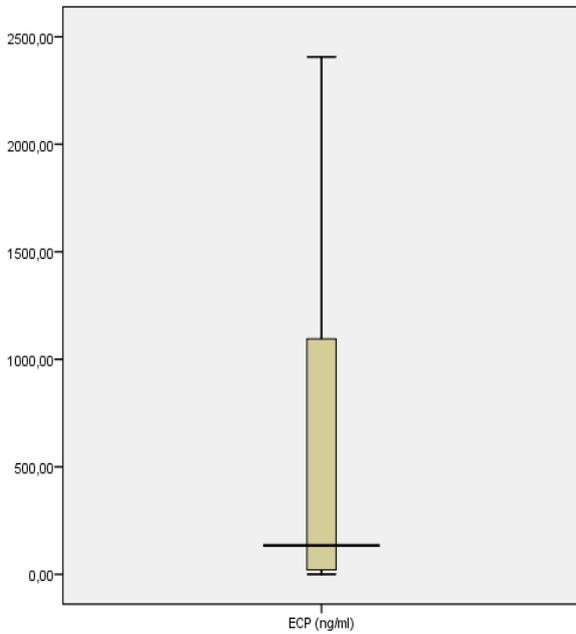


Graph 3 : Répartition de la prévalence de *S. haematobium* selon 4 indicateurs de morbidité par ethnie dans les 3 villages (N=110)
 Nous observons ici 2 pics, le premier est observés chez les bozos, suivi par les bambaras.

3. ANALYSES IMMUNOLOGIQUES :

Tableau III-1 : Résultat des concentrations ECP et EPX dans les 3 villages (N=110)

	Moyenne (IC de 95%)	Standard de déviation	Médiane	Minimum	Maximum
ECP (ng/ml)	5,6015E2	±6,98616E2	1,3450E2	0,34	2406,10
EPX (ng/ml)	2,0586E3	±6,25665E2	2,0852E3	1,01	3379,10



Graphe 4: Médiane ECP

Graphe 5: Médiane EPX

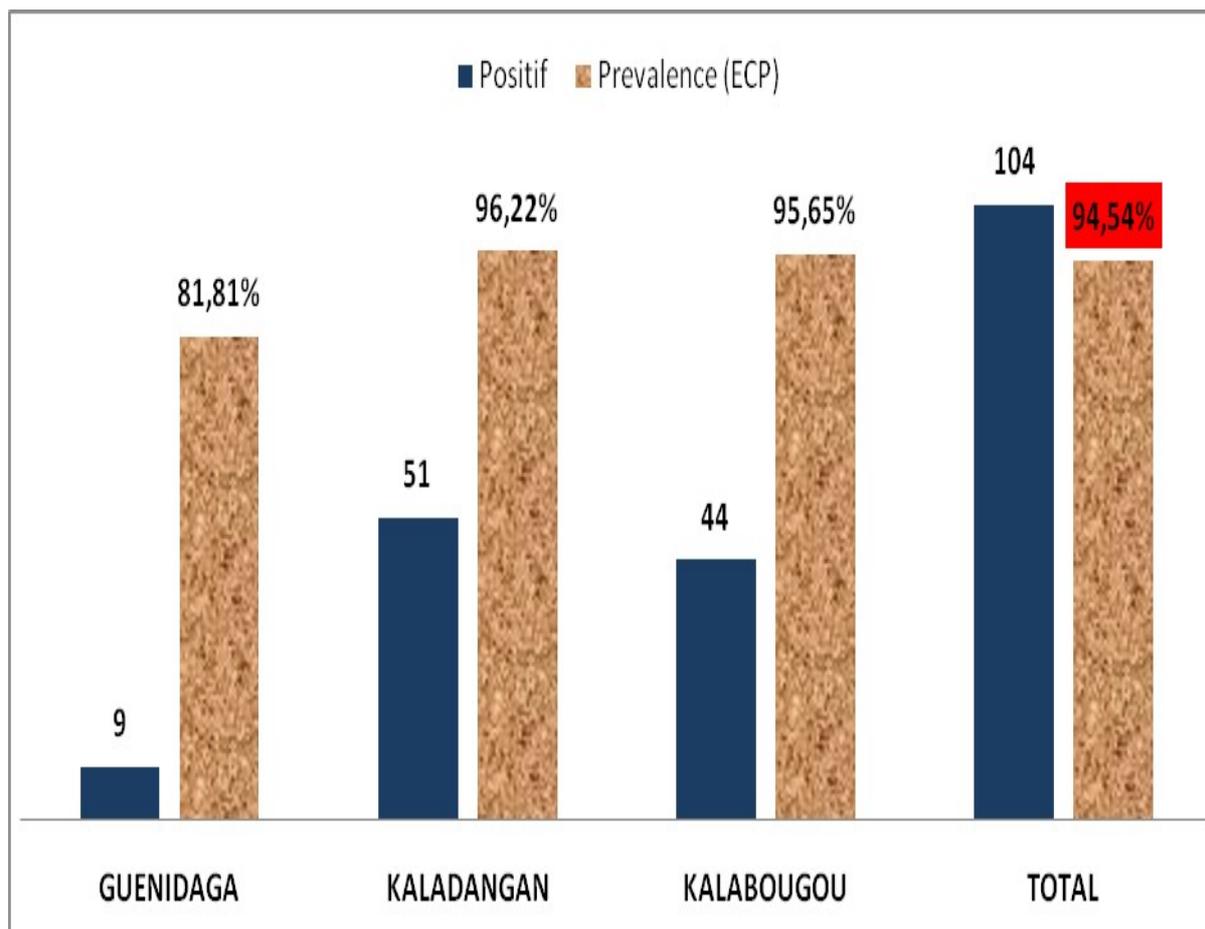
Détermination du seuil idéal de détection en fonction de l'intensité de la charge ovulaire dans les urines grâce aux concentrations observées plus haut :

Tableau III-2 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test ECP par rapport à l'intensité de la charge ovulaire de *S. haematobium* (N=110)

ECP (ng/ml)	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Effcience (%)
≥5	0.98	0.20	0.80	0.53	81
≥10	0.91	0.32	0.82	0.53	78
≥15	0.88	0.52	0.86	0.56	80
≥20	0.85	0.56	0.86	0.53	79
≥25	0.84	0.64	0.88	0.55	80
≥5*	0.95	0.71	0.92	0.81	90
≥5**	0.91	0.40	0.96	0.27	91

* Référence [25]. ** Référence [26].

Après avoir apprécié les résultats à différents seuil de détection, selon le score de l'effcience, nous avons choisi le seuil de détection de 5ng/ml pour ECP.

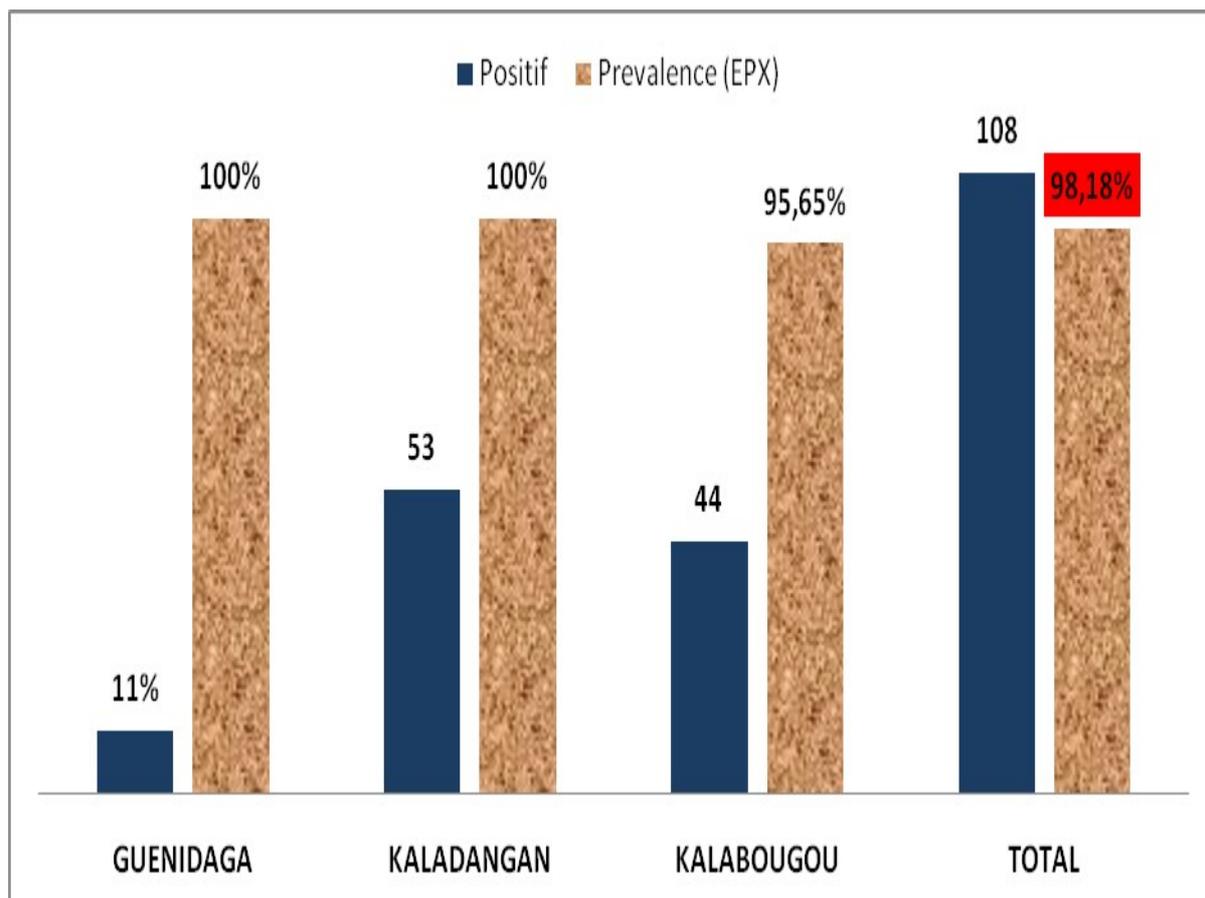


Grphe 6: Prévalence de *S. haematobium* par la charge ECP dans chacun des 3 villages
 Nous observons une très forte prévalence globale où Kaladangan vient en premier suivi de Kalabougou puis de Guenidaga.

Tableau III-3: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test EPX par rapport à l'intensité de la charge ovulaire de *S. haematobium* (N=110)

EPX (ng/ml)	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Effcience (%)
≥5	1	0.04	0.77	1	78
≥10	1	0.04	0.77	1	78
≥15	1	0.04	0.77	1	78
≥20	1	0.04	0.77	1	78
≥25	1	0.04	0.77	1	78
≥50	1	0.04	0.77	1	78
≥100	1	0.04	0.77	1	78
≥500	1	0.08	0.78	1	79
≥1000	0.94	0.16	0.79	0.44	76

Nous avons choisie 500 ng/ml comme cut-off car jusqu'à une valeur de 100 ng/ml, la spécificité (0.04) est resté inchangé. A 500ng/ml nous avons observé la meilleure effcience (0,79), car au-delà, l'effcience baisse.



Graph 7: Prévalence de *S. haematobium* par la charge EPX dans chacun des 3 villages
 Nous observons une très forte prévalence globale à Guenidaga.

Tableau III-4: Sensibilité, spécificité et corrélation de la charge ECP (500 ng/ml) par rapport à certains indicateurs de morbidité (N=110)

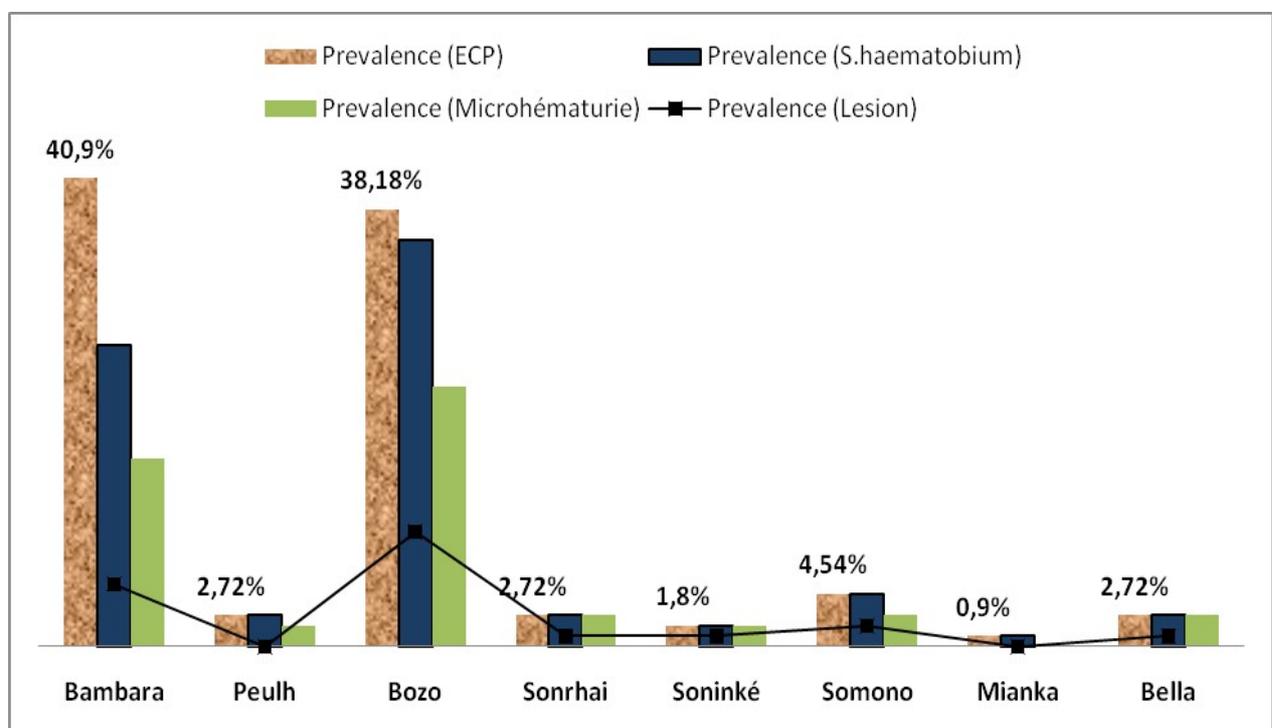
Indicateurs de morbidité	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Coefficient de corrélation (r)	p
Intensité/ECP (≤5ng/ml)	0.98	0.20	0.80	0.53	0,38	0,001
Macro-hématurie/ECP (≤5ng/ml)	0,81	0,04	0,21	0,80	0,01	0,90
Micro-hématurie/ECP (≤5ng/ml)	0.98	0.07	0.53	0.80	0,14	0,20
Lésions/ECP (≤5ng/ml)	1	0,06	0,21	1	0,12	0,30
Lésions/ECP (≤25ng/ml)	0,86	0,29	0,23	0,89	0,14	0,20
Microhématurie/ECP (≤25ng/ml)	0,87	0,39	0,60	0,75	0,31	0,001

Nous observons une certaine corrélation entre Intensité de la charge ovulaire et concentration ECP, suivi par la micro-hématurie (pour $ECP \leq 25 \text{ ng/ml}$). Ces deux variables présente par ailleurs les analyses les plus significatives.

Tableau III-5 : Sensibilité, spécificité et corrélation de la charge EPX ($\leq 500 \text{ ng/ml}$) par rapport à certains indicateurs de morbidité (N=110)

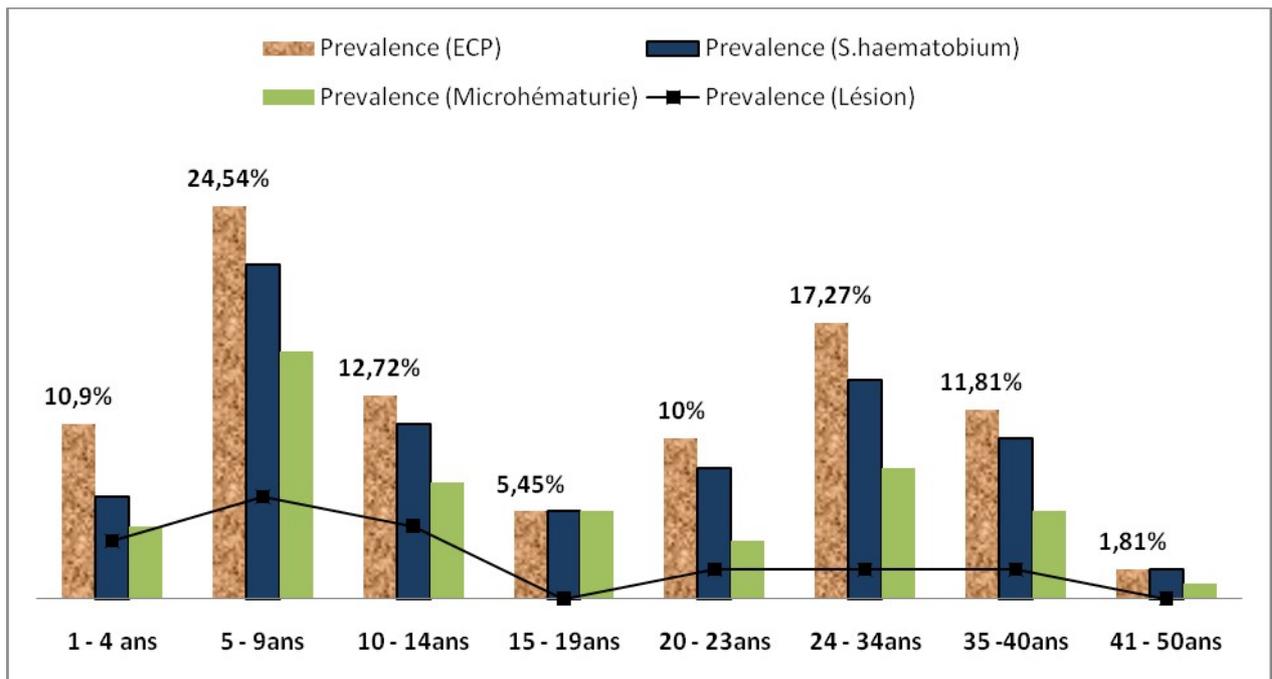
Indicateurs de morbidités	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Coefficient de corrélation (r)	p
Intensité	1	0,08	0,78	1	0,25	0,01
Macro-hématurie	1	0,02	0,21	1	0,07	0,50
Micro-hématurie	1	0,04	0,52	1	0,14	0,20
Lésions	1	0,02	0,20	1	0,09	0,50

L'intensité présente la meilleure corrélation avec EPX, test par ailleurs significatif.

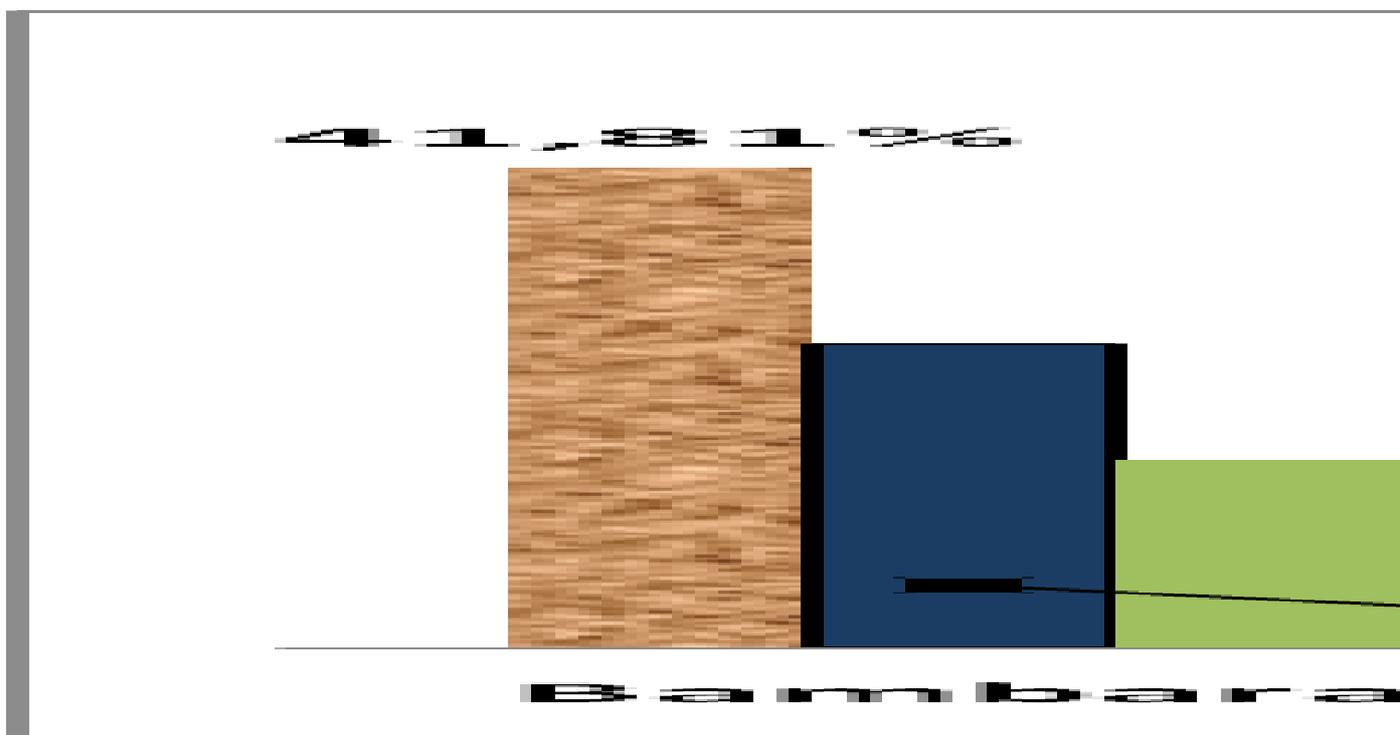


Graph 8 : Répartition de la prévalence de la charge ECP et de 3 indicateurs de morbidité de *S. haematobium* par rapport à l'ethnie dans les 3 villages (N=110)

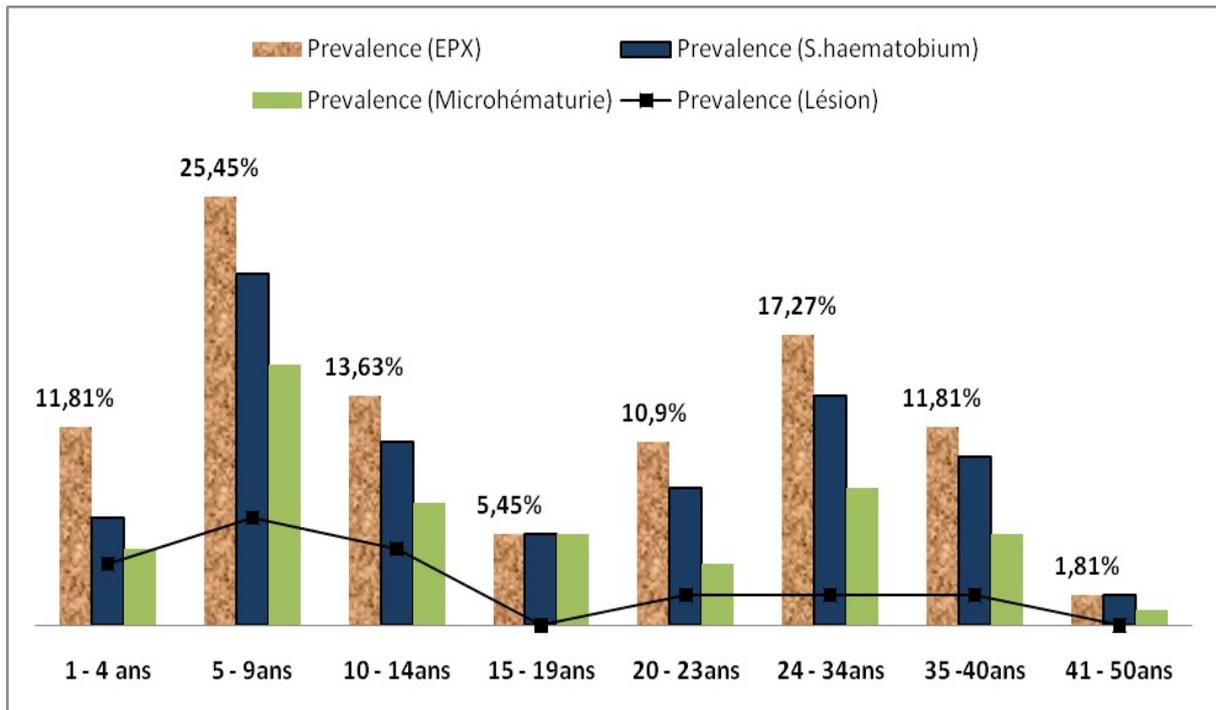
Nous observons une plus forte prévalence chez les Bambara, les Bozos viennent en second.



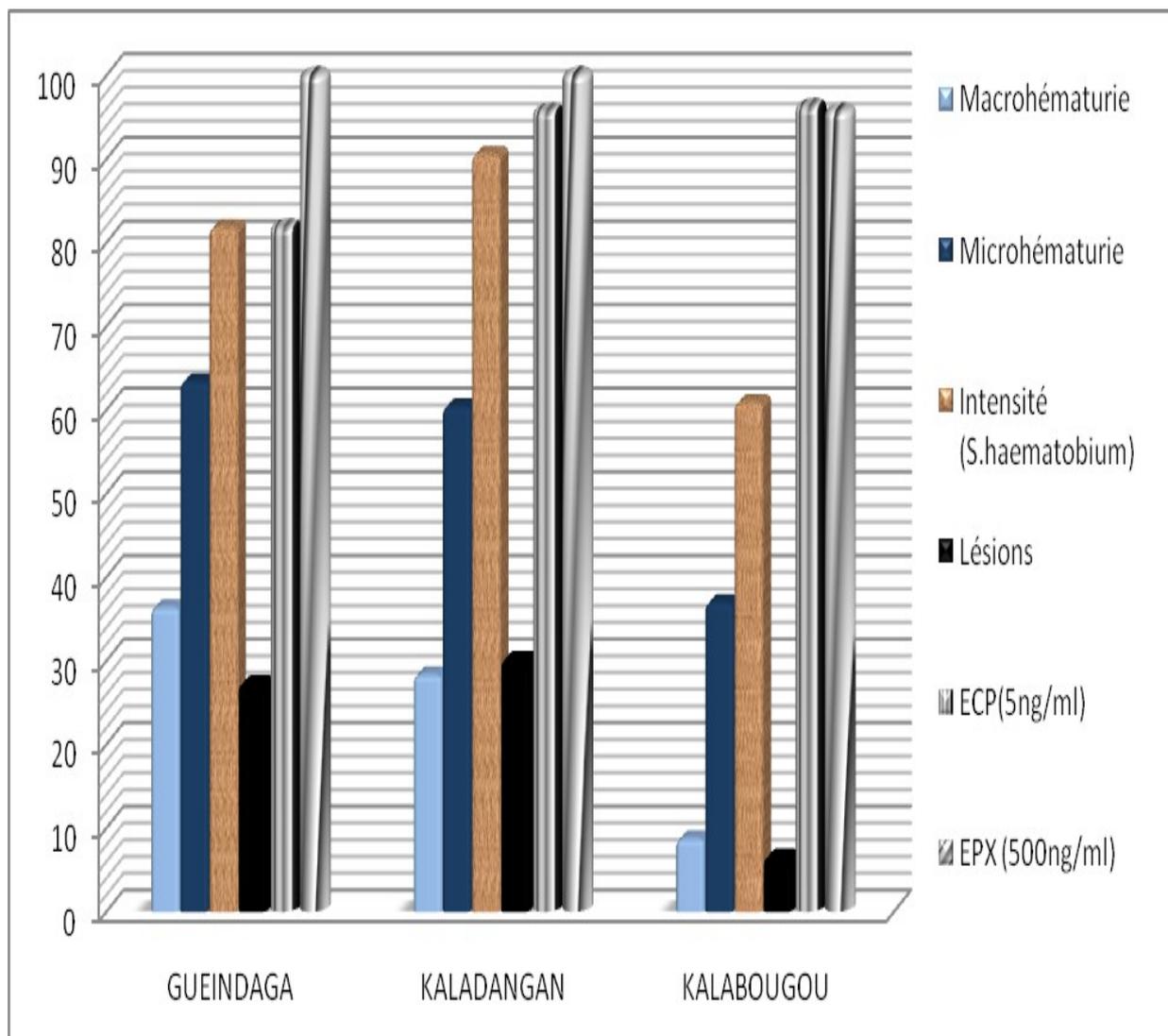
Graphe 9 : Répartition de la prévalence de la charge ECP et de 3 indicateurs de morbidité de *S. haematobium* par rapport tranche d'âge dans les 3 villages (N=110)
L'ECP nous révèle ici une prévalence avec les pics au niveau des 5-9ans et des 24-34ans.



Graphe 10 : Répartition de la prévalence de la charge EPX et de 3 indicateurs de morbidité de *S. haematobium* par rapport à l'ethnie dans les 3 villages (N=110)
Nous observons ici de très fortes prévalences chez les bambaras et les bozos.



Graphe 11 : Répartition de la prévalence de la charge EPX et de 3 indicateurs de morbidité de *S. haematobium* par rapport à la tranche d'âge dans les 3 villages (N=110)
 La tranche d'âge allant de 5 à 9ans présente la plus forte prévalence de notre échantillon.



Graph 12: Prévalence de la bilharziose urinaires dans chacun des 3 villages par les différents indicateurs de morbidité et les marqueurs immunologiques (ECP/EPX) N=110 L'intensité de la charge ovulaire (*S.haematobium*) et les charges ECP et EPX sont très élevés dans ces 3 villages, ils sont suivis par la microhématurie.

Tableau III-6 : Fréquence des charges ECP ($\leq 5\text{ng/ml}$) et EPX ($\leq 500\text{ng/ml}$) pour les individus ayant une charge ovulaire nulle à *S. haematobium* et *S. mansoni* (N=110)

Fréquence de charge ovulaire nulle au Genre <i>Schistosoma</i>	
ECP ≥ 5 (ng/ml)	20
EPX ≥ 500 (ng/ml)	22

Sur un nombre total de 24 individus ayant une charge ovulaire nulle aux *S. haematobium* et *S. mansoni* (sur N=110), 20 individus positifs ont été recensé lors de l'analyse ECP et 2 de plus avec l'analyse EPX.



L'image ci-dessus est un exemple de résultat après avoir effectué l'ensemble du mode opératoire qui est mentionné plus haut dans ce chapitre.

CHAPITRE IV : COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Au terme de cette étude, aucune réelle difficulté n'a été rencontrée. Seules les conditions environnementales (la poussière) auraient pu poser un problème, car les particules de poussière peuvent réduire la visibilité des filtres optiques de l'appareil de lecture des microplaques (MultiScan). Pour pallier à cela, des soins ont été pris afin de toujours recouvrir l'appareil de manière hermétique après chaque utilisation. Le laboratoire fut nettoyé au quotidien avant et après chaque analyse pour éviter l'accumulation de la poussière et de tout autre élément pouvant affecter les résultats de manière significative. Mais des limites ont été observées lors des analyses de détection d'EPX.

Notre étude réalisée avec un échantillon de 110 individus (sur un total de 167) répartis en 8 ethnies dont 2 majoritaires (Bambara et Bozo), était majoritairement jeune (56,36% ayant moins de 20ans). La sélection aléatoire de notre échantillon expliquait la variation d'âge qui allait de 1 à 50ans et une répartition presque équitable du genre (avec un ratio de 1,15 en faveur du genre féminin). Mais la forte représentation de seulement 2 ethnies sur 8 s'expliquait par le fait que la Région de Ségou se trouve être la zone des Bambaras (Ségou fut la capitale du Royaume Bambara) et que les bozos constituent l'ethnie la plus fréquemment rencontrée le long des fleuves du fait de leur principale activité qu'est la pêche.

Les 3 villages d'étude sont riverains du fleuve Niger. L'eau-dépendance de la bilharziose et les renseignements sur la situation sanitaire et hygiénique recueillis auprès des autorités sanitaires (CSCOM de Souba) de ces différents villages, indiqueraient la possibilité de rencontrer des cas de bilharziose au sein de ces populations [2]. L'insuffisance de latrines respectant les normes d'hygiène et le manque de source d'eau potable, conduisaient la majorité des populations vers le fleuve pour des baignades, des besoins naturels et domestiques. Tous ces éléments justifieraient le choix de ces villages pour cette étude.

L'étude fut menée dans le but d'évaluer l'applicabilité de la détection des ECP et des EPX par ELISA au Mali dans le cadre du projet MustSchistUKEMA. Ce projet qui consiste en un transfert de technologie sur le terrain permettant l'utilisation d'indicateurs immunologiques devrait permettre, après validation de l'applicabilité de cette technologie « sur le terrain », d'étudier la façon dont la morbidité peut être affectée et modulée par un changement de traitement lors d'une bilharziose en zone endémique: en Ouganda, au Kenya et le Mali.

Cette méthode immunologique de diagnostic, déjà appliquée en Tanzanie avec succès [25], était par cette présente étude testée pour la première fois en Afrique de l'Ouest. Afin d'atteindre le but visé, un certain nombre de paramètres ont été déterminés: sociodémographiques (sexe, âge, ethnie), cliniques (symptômes liés aux bilharzioses,

lésions au niveau de l'appareil urinaire), parasitologiques (indicateurs de morbidité indirecte de la bilharziose urinaire) et immunologiques (marqueurs ECP et EPX). Ces paramètres ont permis d'avoir la prévalence de la bilharziose urinaire. La prévalence de *S. haematobium* observée au sein de notre échantillon (N=110) a permis d'effectuer et d'établir les corrélations entre variables parasitologiques et variables immunologiques déterminant ainsi la performance de la technique de détection des charges ECP et EPX par ELISA comme l'ont fait REIMERT et al., (1993 et 2000) et SACKO (2006).

Les résultats sociodémographiques ont d'abord permis de décrire l'échantillon, puis l'interrogatoire par le questionnaire permet d'orienter le diagnostic, de juger de la nécessité et du type d'examen complémentaires à demander. L'interrogatoire donna ainsi une appréciation clinique grâce à la symptomatologie liée aux schistosomias [58]. Ces résultats ont révélé 4 signes majeurs : douleurs abdominales, dysuries, hématuries et douleurs pelviennes. L'hématurie, la dysurie et les douleurs pelviennes sont des symptômes observés lors d'une bilharziose urinaire ; les douleurs abdominales, les diarrhées et le sang dans les selles quant à eux sont rencontrés le plus souvent lors d'une bilharziose intestinale [7]. Mais étant donné que seule 24 individus sur 110 ont présenté des œufs de *S. mansoni* (agent responsable de la bilharziose intestinale) dans leurs selles, la fréquence importante des douleurs abdominales pourrait être due à une maladie autre que la bilharziose. Car tous les 24 individus ayant une intensité de charge ovulaire forte (à *S. mansoni*) ont présenté du sang dans les selles et une diarrhée. Mais seuls 6 présentaient des douleurs abdominales dont les causes pourraient être alimentaires (intoxication) ou liées à d'autres parasitoses intestinales (amibiases, giardioses).

La bilharziose et son diagnostic au Mali ne datant pas d'aujourd'hui, déjà pendant la période coloniale des décès dus aux bilharzioses urinaire et intestinale avaient été observés dans le Soudan Français (actuel Mali) [57].

Plusieurs études ont été effectuées au Mali par rapport à la répartition de la bilharziose. Entre 2004 et 2006 une prévalence de 38.3% a été observée pour *S. haematobium* et 6.7% pour le *S. mansoni* à la même période [55]. Déjà une enquête de l'INRSP (couvrant la période 1984-1994) avait constaté une prévalence de 62,8% pour le *S. haematobium* et 51,2% pour le *S. mansoni* dans la Région de Ségou [54]. Une étude publiée en 2007 sur l'épidémiologie des Schistosomias au Mali a révélé une prévalence de 62,9% pour le *S. haematobium* dans la zone Office du Niger [28]. Pour notre part, une prévalence de 77.3% pour la bilharziose urinaire à *S. haematobium* et une prévalence de 22% pour la bilharziose intestinale à *S. mansoni* avec 11 cas de coïnfections à *S. haematobium* et *S. mansoni*. La différence de prévalence observée pourrait être due à une différence de lieux d'étude [28, 54].

Ces prévalences observées nous montrent une forte endémie de bilharziose urinaire dans ces villages. Guenidaga et Kaladangan, se caractérisent par une population majoritairement constituée de Bozos (dont la principale activité est la pêche) et de Somonos (dont la principale activité est la vente de poisson au bord de l'eau) ; et l'insuffisance de latrine conforme aux normes et règlements sanitaires. Ces 2 facteurs (activité et sanitaire) pourraient expliquer la forte prévalence de tous les indicateurs de morbidité à la bilharziose urinaire au sein de ces 2 villages. Kalabougou quant à lui se distingue par une population constituée de 86,95% de Bambara (dont la principale activité est l'agriculture) et des latrines plus conformes aux normes et règlements sanitaires. D'où une prévalence 20 à 30% inférieure à celle des 2 villages précédents.

Notons aussi que tous les cas de coïnfection à *S. haematobium* et à *S. mansoni* ont été observés à Guenidaga et Kaladangan bien qu'ils soient moins peuplés que Kalabougou.

Sur l'ensemble de l'échantillon, la courbe de répartition de la prévalence de *S. haematobium* selon les tranches d'âge forme une première cloche qui s'étend de 1 à 14ans avec une prévalence qui varie de 10 à 25%. Des études ont montré qu'en dehors de l'hivernage les enfants et les femmes ont un contact plus fréquent avec les points d'eau que les hommes adultes, d'où une prévalence plus élevée chez les femmes et les enfants par rapport aux hommes adultes. Cette différence pourrait s'expliquer par les activités menées par ces femmes et ces enfants [89].

Mais notons aussi, que les mollusques infectés sont le plus souvent rencontrés pendant cette période, d'où une transmission élevée [89].

Cependant l'hivernage est la période pendant laquelle l'agriculture et la pêche sont les plus pratiquées par une tranche d'âge correspondant à notre 2^{ème} pic de prévalence (24-34ans). C'est bien après cette période (l'hivernage), pendant le mois de Février que nos échantillons ont été prélevés.

En prenant le cas de Kalabougou qui présente une prévalence de *S. haematobium* beaucoup moins élevée par rapport aux 2 autres villages. Sa population majoritairement Bambara et en âge de pratiquer l'agriculture pourrait éventuellement justifier cette prévalence car l'activité agricole s'intensifie pendant l'hivernage et un peu après [89].

Une forte prévalence de *S. haematobium* fut observée chez les enfants d'âge scolaire (7-14ans), bien que ces derniers fassent l'objet de nombreuses études car présentant très souvent une forte prévalence [26, 28, 54, 56]. Elle pourrait s'expliquer par la fréquentation des points d'eau (lieu de récréation des enfants) très souvent en dehors de la saison pluvieuse d'où un risque de transmission très élevé lors d'une baignade dans des eaux souillées [89].

Le traitement de masse communautaire au praziquantel étant guidé par le diagnostic communautaire actif à partir d'examen d'urine chez les enfants de 7 à 14ans, la principale stratégie consiste à focaliser les campagnes de traitement de masse sur les

enfants de cet âge [28]. Bien vrai qu'elle ait permis de réduire de façon significative le taux de prévalence de *S. haematobium* et de *S. mansoni* dans certains villages de la zone de l'Office du Niger [28], 13 cas d'hématurie, et 11 cas de microhématurie ont été observés chez 24 enfants d'âge préscolaire (moins de 6 ans). Les enfants d'âge préscolaire restent une couche très vulnérable, les séquelles qu'ils peuvent développer sont beaucoup plus importantes que chez les adultes mais ces enfants sont très souvent écartés lors des campagnes de traitement chimio-préventifs de masse.

Lors de l'examen échographique quelques lésions ont été observées. Les lésions qui constituent le seul marqueur de morbidité direct utilisé dans cette étude. L'examen échographique fut pratiqué selon le protocole standard du comité d'expert financé par l'OMS à Niamey [82]. Nous avons observé certaines lésions nous donnant une prévalence de 20% (N=110) dans les 3 villages. La population de Kaladangan a présenté plus de lésions avec 30,18% suivi de celle de Guenidaga. Les enfants ayant moins de 14 ans représentaient 89% des cas lésions observées et 56% de ces enfants étaient des Bozos.

Mais toujours est il, que le diagnostic précoce et l'inclusion des enfants de moins de 5 ans dans les campagnes de traitement chimio-préventifs de masse aurait pu réduire la prévalence de lésions au niveau de l'appareil urinaire (30,76%) observées chez ces derniers.

Une meilleure relation fut observée entre micro-hématurie et lésion au niveau de l'appareil urinaire plutôt qu'entre l'intensité de la charge ovulaire et la présence de lésion au niveau de l'appareil urinaire. En revanche, la relation entre microhématurie et intensité de charge ovulaire présentait une corrélation très significative ($p < 0,0000001$). Suivant la même idée, une enquête réalisée au Zimbabwe avait conclu que la microhématurie est un indicateur valable dans le diagnostic de la bilharziose urinaire (à *S. haematobium*) dans un programme national de lutte, il pourrait même se substituer à l'examen parasitologique (détermination des œufs dans les urines par filtration) [62].

Une fois les analyses immunologiques effectuées, les seuils de détection pour ECP et pour EPX fut déterminés.

Le choix de 5ng/ml comme seuil de détection d'une infection schistosomienne pour le marqueur immunologique ECP résultat de la performance du test observé à travers un score significative et une efficacité de 81% entre l'intensité de la charge ovulaire du *S. haematobium* et la charge d'ECP dans les urines à ce seuil. Ce seuil qui étant notre seuil de détection optimal pour la charge ECP, avait aussi été conseillé dans une étude précédente avec une sensibilité, une spécificité et une efficacité respectives de 95%, 71%, 90% [25]. Au même seuil (soit 5ng/ml) des résultats similaires ont été rapportés par SACKO (au Danemark) avec des échantillons prélevés au Mali. Ce dernier a

obtenu une sensibilité, une spécificité et une efficacité respective de 91%, 40%, 91% [26].

Il est à noter que les études de REIMERT (2000) et de SACKO (2006) concernaient des enfants d'âge scolaire, tandis que notre échantillon n'avait aucun critère d'exclusion par rapport à l'âge (l'âge variait de 1 à 50ans). La première, réalisée en Tanzanie, sa confrontation avec les résultats des charges ECP a permis d'observer une meilleure sensibilité (soit 98% contre 95% pour REIMERT) mais une spécificité inférieure à celle de REIMERT (soit 20% contre 71%) [25].

La seconde quant à elle, s'approche plus de notre étude, car réalisée à partir d'échantillons prélevés aussi au Mali bien que les zones de collecte diffèrent. Nos résultats ont néanmoins présenté une spécificité et une efficacité inférieures à celles observées par SACKO (2006), soit 20% contre 40% et 81% contre 91% [26]. Ces différences pourraient s'expliquer par une forte prévalence de *S. haematobium* observé par SACKO (2006), mais aussi par une différence de type d'échantillon. Dans notre étude tous les âges étaient inclus alors que chez SACKO seul les enfants d'âge scolaire (7 à 14ans) étaient pris en compte [26]. L'utilisation de la filtration comme test de référence pourrait aussi expliquer cette différence. Certaines charges ovulaires nulles peuvent s'expliquer par une variation d'excrétion lors du prélèvement, ou encore par l'âge de l'individu, car les œufs peuvent se glisser (ou s'accrocher) entre les tissus de la vessie [25, 26, 78].

La filtration des urines ne pouvant pas détecter tous les vrais positifs, la variation du score de cet indicateur affecte la spécificité donc la performance du test auquel il est corrélé (car la spécificité permet de déterminer cette performance) [26].

Afin de déterminer le seuil de détection d'une infection schistosomienne pour le marqueur immunologique EPX, il a fallu pousser le seuil jusqu'à 500ng/ml pour avoir un test significatif ($p < 0,01$) et une efficacité de 79% entre l'intensité de la charge ovulaire du *S. haematobium* et la charge d'EPX dans les urines.

Mais bien vrai que la zone soit fortement endémique, plus de 70% des individus reconnus sains selon les indicateurs de morbidité utilisés, présentaient des résultats positifs avec de fortes concentrations d'EPX. Cette forte concentration pourrait éventuellement s'expliquer par le fait qu'il y ait dans les prélèvements une composante autre qu'une infection helminthique qui fait réagir les EPX. Cette composante dans le prélèvement d'urine responsable de la forte sensibilité de l'EPX pourrait être liée à la propriété neurotoxique d'EPX qui est supérieure à celle de l'ECP [27].

Après avoir constaté une très forte sensibilité de l'EPX par rapport à l'ECP, «la forte concentration d'EPX trouvée dans l'urine de personnes reconnues saines conforte l'hypothèse selon laquelle la présence d'EPX serait liée à des facteurs autres qu'hématologiques» [27].

Le test de corrélation entre les charges EPX ($\leq 500\text{ng/ml}$) par rapport à la présence de lésions n'était pas significatif avec $r < 0,1$ d'où une très faible corrélation aux seuils de détection choisis.

Des études précédentes ont démontré qu'ECP pouvait être considéré comme un indicateur de morbidité au seuil de détection de 25ng/ml . Il serait donc plus aisé de corréler les variables lésion et microhématurie avec ECP à un seuil de détection de 25ng/ml comme l'ont fait REIMERT et SACKO [25, 26].

Sur trois indicateurs de morbidité indirecte utilisés dans cette étude, la microhématurie venait juste après l'intensité de la charge ovulaire. La corrélation entre l'intensité de la charge ovulaire et la charge ECP ($\leq 5\text{ng/ml}$) était certes peu puissante ($r=0,4$) mais significative ($p < 0,001$). Par contre, la microhématurie corrélée à la charge ECP ($\leq 5\text{ng/ml}$) n'était pas significative.

En outre l'utilité de la microhématurie comme indicateur de morbidité a été démontré [62, 83, 84, 85]. Le choix du seuil de détection de 25ng/ml a permis d'observer une corrélation positive, significative entre charge ECP et microhématurie avec une spécificité de 39%.

Comme dans l'étude de SACKO la spécificité observée entre ECP ($\leq 5\text{ng/ml}$) et l'intensité de la charge ovulaire était inférieure à celle observée entre ECP ($\leq 25\text{ng/ml}$) et microhématurie. Cette observation conforte la thèse selon laquelle ECP pourrait être utilisée comme marqueur de morbidité [25, 27].

Comme indicateur de morbidité direct nos résultats ont révélé une prévalence variant de 6,52 à 30,18% de lésions au niveau de l'appareil urinaire contre 16,4 à 52% pour SACKO (2006) [26]. Cette différence pourrait s'expliquer par le type de l'échantillon de SACKO, car la tranche d'âge (7-14ans) qui constitue son échantillon était parmi celle qui a présentée le plus de lésion dans le notre [26]. D'autre part, la faible corrélation observée entre lésions et ECP ($r < 0,2$) n'était pas significative. Elle a présenté une sensibilité de 29% contre 22 - 33% pour SACKO et 50% pour REIMERT.

Bien que l'examen échographique soit un indicateur de morbidité direct (les lésions étant directement visibles), HATZ et RICHTER ont démontré certaines limites de cet examen malgré son efficacité qui pourrait être la cause du faible degré de signification observé [81].

Tout d'abord, l'appareil ultrasonographique ne peut pas détecter les premiers changements de la paroi vésicale suite à une inflammation débutante ; et les pathologies moyennes font l'objet de variations en fonction de l'angle d'observation qui peut être inter ou intra [15, 80, 81]. De plus, de nombreux cas d'inflammations vésicales pouvant être associés à la morbidité n'ont pas été détectés par échographie lors d'une étude au Madagascar rapportée par LEUTSCHER et al. (2000) [87]. Malgré ces résultats, l'utilisation d'ECP comme marqueur de morbidité, devrait faire l'objet

d'une étude plus poussée au Mali dans la détermination de morbidité liée à la bilharziose urinaire par la charge ECP (à 25ng/ml) détectée par ELISA dans les urines.

Dans le but de déterminer les individus jugés infectés selon les marqueurs immunologiques, 24 individus ne présentant ni micro-hématurie ni charge ovulaire ont été sélectionnés.

Sur les 24, 11 individus ayant une charge positive (soit 45,83%, n=24) pour ECP (≤ 5 ng/ml) et 19 individus ayant une charge positive (soit 79,16%, n=24) pour EPX (≤ 500 ng/ml) ont été observés.

Si ces 11 individus ou même ces 19 individus ne reçoivent pas de traitement car considérés sains, ils pourront développer la maladie ; et en excréant des œufs ils seront des acteurs du cycle parasitaire au sein de leur population.

Comme marqueurs d'infection schistosomienne, l'absence ou la faiblesse de signes cliniques tels que l'hématurie, la microhématurie ne devrait pas exclure la détection de la charge ECP (≤ 5 ng/ml). L'analyse de la corrélation entre la charge ECP (≤ 5 ng/ml) et l'intensité de la charge ovulaire donnait un degré de signification telle, que son utilisation pourrait être d'un apport conséquent dans le diagnostic de la bilharziose urinaire au Mali.

En revanche EPX nécessiterait plus d'études dans le but de déterminer l'ensemble des composantes qui le fait réagir dans les prélèvements d'urine afin d'isoler et d'extraire le composant spécifique à la bilharziose urinaire.

CHAPITRE V : CONCLUSION:

Dans la région de Ségou, plus précisément dans la Commune de Souba, une prévalence respective de 77,3% et de 22% de *S. haematobium* et de *S. mansoni* a été observée grâce aux analyses parasitologiques. En plus de quelques cas de co-infections (*S. haematobium* et *S. mansoni*), les prévalences observées par tranche d'âge interpellent sur la nécessité d'inclure les enfants ayant moins de 5ans dans la campagne de traitement chimio-préventif de masse conduit par le programme national de lutte.

Concernant les résultats immunologiques, l'établissement d'une corrélation entre résultats parasitologiques et charge d'ECP, a permis de déterminer une corrélation très significative. Ce score nous édifie sur la possibilité d'appliquer et de reproduire le test de détection d'ECP par ELISA en cas de bilharziose urinaire au Mali.

En revanche, la charge d'EPX a présenté une corrélation assez significative $p < 0,01$ mais limitée. Cette faible corrélation dans le cas d'EPX s'expliquerait par un certain nombre de facteurs mentionnés plus haut dans cette thèse, ils soulignent la nécessité de faire plus de recherche sur la sensibilité d'EPX.

Cette étude devrait permettre, à travers l'analyse des résultats obtenus, la prévention de l'apparition de la maladie par un diagnostic précoce. Car ce diagnostic impliquerait un traitement précoce. Elle devrait aussi permettre de détecter des cas d'infections chroniques (où les examens parasitaires ne sont pas toujours positifs en milieu de forte endémicité malgré la présence du parasite).

L'adoption de la méthode ELISA conduirait vers une meilleure prise en charge des populations dans les zones à risque, augmentant ainsi l'efficacité du Programme National de Lutte réduisant ainsi les morbidités liées à la bilharziose urinaire.

En tenant compte des répercussions de la bilharziose sur l'économie d'un pays comme le Mali, les avantages de l'application de cette méthode, lors des activités du PNLSh et si possible, de son introduction dans le tableau des analyses de routine, pourraient transformer son coût en un investissement très rentable pour l'économie de notre pays. Nous espérons que cette étude sera le premier jalon vers un diagnostic plus rapide, plus précis et précoce, permettant ainsi l'élaboration de meilleures stratégies de lutte contre la bilharziose au Mali à moyen terme car une maladie mal ou non diagnostiquée est une maladie mal traitée.

CHAPITRE VI : RECOMMANDATIONS :

Au terme de notre étude, nous recommandons ce qui suit :

- ***Aux autorités sanitaires :***
 - Encourager les analyses immunologiques pour un diagnostic précoce de la maladie,
 - Equiper les laboratoires et former le personnel afin de reproduire la technique ELISA,
 - Introduire le test de détection des ECP par ELISA dans les analyses de routine de la bilharziose urinaire.

- ***Au personnel de santé :***
 - Etre très rigoureux lors de l'exécution du protocole d'analyse du test ELISA,
 - Respecter les exigences sanitaires et d'hygiène qui régissent un laboratoire d'analyse médicale,
 - Sensibiliser les populations sur la maladie : sa transmission, son évolution, ses complications et l'intérêt d'un diagnostic précoce.

- ***Aux chercheurs :***
 - Faire des études afin d'élaborer dans un futur proche des kits de diagnostic rapide avec ECP comme marqueur dans le diagnostic précoce de la bilharziose urinaire.
 - Procéder à plus d'étude sur tous les composants pouvant faire réagir l'EPX dans les prélèvements d'urines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Domart A.** (1981). Nouveau Larousse Médicale. Librairie Larousse. Pages 1114
2. **Gentilini M.** (2000). Médecine tropicale : Maladies parasitaires (les schistosomes). Edition Au Pelf-UREF, Paris
3. **Vray B.** (2002). Les apports de la biologie moléculaire à la paléoparasitologie, Vesalius VIII 1. Pages 45 - 52
4. **Engels D., Chitsulo, L., Montresor, L. and Savioli, L.** (2002). The global epidemiological situation of Schistosomiasis and new approaches to control and research. Acta Tropica, 82: 139-146
5. **Moulin A M.** (1990). Immunologie – CNRS, Pages 7
6. **Chippaux J P.** (2000). La lutte contre les schistosomiasis en Afrique de l’Ouest. Communications présentées à l’atelier sur les difficultés rencontrées dans la mise en œuvre des programmes de lutte contre les schistosomiasis en Afrique de l’Ouest, Niamey-Cermes P.P.290
7. **Jordan P., Webb G.** (1993). Human Schistosomiasis, Oxon Ed. CAB International, 480pages (Aide mémoire de parasitologie et pathologie médicale)
8. **Coulibaly S V.** (2006). Etude de la morbidité due aux schistosomiasis dans une population adulte au Mali à propos de 745 cas observés dans la région de Ségou. FMPOS, Université de Bamako (MALI). Pages 84
9. **DIEUSART P.** (2005). Guide analytique des analyses médicales 4eme édition, Collection : « Guide pratique médicaux » édition MALOINE Pages 1543. Page : 202-206
10. **Rousset J J.** (1993). Copro-parasitologie pratique: intérêt et méthodologie « *notions sur les parasites du tube digestif* » (Association africaine de microbiologie et d'hygiène alimentaire) Publié par Estem, Pages 256 pages
11. **Moulin M., Coquerel A.** (2002). Pharmacologie Edition: 2 Publié par Elsevier Masson, 840 pages. Pages 309-311
12. **Van Etten L.** (1998). Development and evaluation of immuno-assays for detection of schistosome circulating antigene in urine. Pages 111
13. **DeClerck D.** (1996). The epidemiology and control of human Schistosomiasis and Geohelminthiasis in MALI, West AFRICA. Pages 175. Chapter 5
14. **Kelly J.** (1999). Role of ECP in Monitoring Inflammatory Conditions . DPC, Pages 5
15. **Vennervald B J., Kahama A I., Reimert C M.** (2000). Assessment of morbidity in Schistosoma haematobium infection: current methods and future tools. Acta Tropica 77 “81-89”

16. **Savioli L., Renganathan E., Montresor A., Davis A. and Behbehani K.** (1997). Control of Schistosomiasis a global picture. *Parasitology Today*, 13: 444-448
17. **VanLieshaut L., Polderman A M., Deelden.** (2000). Immunodiagnosis by determination of the circulating antigens CAA and CCA
In particular in individuals with recent on light infections. *Action tropics* 69-80: page 71.
18. **Chatelain C.** (1977). La bilharziose urogénitale. Association française d'urologie, Paris 71eme session.
19. **Khoury S.** (1985). *Urologie: pathologie infectieuse.* Masson. 491-531
20. **OMS.** (1998). Rapport de la consultation informelle de l'OMS sur la lutte contre les Schistosomiasis, Geneve. Pages 71, pages 29-30
21. **Landouré A., VanDerWerf M J., Traoré M., DeVlas S J.** (2003). Evaluation of case management in the integrated schistosomiasis-control programme in Mali. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*.97 (7):723-736
22. **WHO.** (2002). Expert Committee. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. *World Health Organ Tech Rep Ser*; 912 (I-VI): 1-57.
23. **Keïta A.D., Sacko M., Coulibaly Y I., Coulibaly S Y., Landoure A., Touré M., Tembely A., Traoré M., Fofana B., Diarra Y., Kané M., Gabrieli A., Fenweck A.** (2009). Imagerie des tumeurs urologiques dans une zone d'endémie bilharzienne au Mali. *J. Afr. Cancer* 1:135-140 Pages 6
24. **OMS,** (1991). « Efficacité du questionnaire dans l'orientation du diagnostique » *Journal*, volume 69
25. **Reimert C.M., Mshinda H M., Hatz C F., Kombe Y., Nkulila T., Poulsen L K., Christensen N O. and Vennervald B J.** (2000). Quantitative assessment of eosinophiluria in *Schistosoma haematobium* infections : A new marker of infection and bladder morbidity. Copyright by the American society of tropical medicine and hygiene. Page 19-28
26. **Sacko M.** (2006). PhD Thesis. "Assessment of the effect of two different treatment strategies on the morbidity caused by *Schistosoma haematobium* infection among school aged children in the Niger river basin, Mali"
Faculty of Science, University of Copenhagen, DENMARK and DBL. Pages 159
27. **Reimert C.M., Ouma J H., Mwanje M T., Magak P., Poulsen L K., Vennervald B J., Christensen N O., Kharazmi A. and Bendtzen K.** (1993). Indirect assessment of eosinophiluria in urinary Schistosomiasis using eosinophil cationix protein (ECP) and eosinophil protein X (EPX)
Acta Tropica, 54:1-12
28. **Traoré M., Landouré A., Diarra A., Kanté B., Sacko M., Coulibaly G., Sangho A. and Simaga S Y.** (2007). La diversité écoclimatique et l'épidémiologie des schistosomiasis au MALI : implications pour un programme de contrôle.
Mali medical. 22: 22-28

29. **Rollinson D., Klinger E V., Mgeni A F., Khamis I S. and Stothard J R.** (2005). Urinary schistosomiasis on Zanzibar application of two novel essays for the detection of excreted albumin and *S. haematobium* in urine. Journal of helminthology “199-206”
30. **Hagan P.** (1996). Immunity and morbidity in infection due to *Schistosoma haematobium*. The American society of tropical medicine and hygiene. Pages: 116-120
31. **WHO.** (1993). The control of Schistosomiasis. Report of a WHO expert committee. WHO Technial Report. Series No 830: Geneva
32. **Bourrée P., Thulliez P.** (1983). Les Cirrhoses parasitaires. Vie Med 29/30 : Pages 1499-1511
33. **Aubry P.** (2008). Schistosomoses ou bilharzioses Actualités. Mise à jour le 19/09/2008
34. **Chitsulo L., Engels D., Montresor A., and Savioli L.** (2000). The global status of Schistosomiasis and its control. Acta Tropica, 77: 41-51.
35. **VanDerWerf M J. and al.** (2003). Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. Acta Tropica, 86:125-139.
36. **World Health Organization (WHO),** (1985). The control of Schistosomiasis. Report of a WHO expert committee Geneva. WHO Technial Report. Series No 728
37. **Vennervald B.J. and Dunne D.W.** (2004). Morbidity in Schistosomiasis: an update. Current Opinion in Infectious Diseases 17: 439-447
38. **Rey J.L., Sellin B.** (1990). Bilharzioses et développement agricole, pages 22
39. **Traoré M., Maude G H., Bradley DJ.** (1998). *Schistosomiasis haematobia* in Mali: prevalence rate in school-age children as index of endemicity in the community. *Trop. Med. & Int. Health.* 3 : 214-221
40. **Corachan M., Riuz L., Valls M E., Gascon J.** (1992). Schistosomiasis in the Dogon contry (MALI). American Journal of Tropical medicine and hygiene 47, 6-9
41. **Brinckmann U K., Korte R., Schmidt Enrhy B.** (1988). The distribution and spread of Schistosomiasis in relation to water resources development in MALI. Tropical Medecine. Parasitology. 39 : 182-185
42. **Barkira N.** (1992). Les schistosomiasis et leurs hotes intermediares au Niger et dans le monde. Stages techniques sur les schistosomiasis. CERMES/OCCGE. Pp 6
43. **WHO.** (2002). Prévention and control schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis : report of a WHO expert commitee. WHO Tech. Rep. Ser. No.912, Geneva: World Health Organization.

44. **Fenwick A., Savioli L., Engels D., Bergquist N R., Todd M H.** (2003). Drugs for the control of parasitic diseases : current status and development in schistosomiasis. *Trends parasitol.* 19: 509-515
45. **Hagan P., Appleton C C., Coles G C., Kusel J R., Tchuem-Tchuenté L A.** (2004). Schistosomiasis control: Keep taking the tablets. *Trends parasitol.* 20: 92-97.
46. **Utzing J., Keiser J.** (2004). Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: common drugs for treatment and control. *Expert Opinion Pharmacother.* Ashley publications. 5(2): 263-285
47. **Utzing J., Xiao S H., N'goran E K., Berquist R., Tanner M.** (2001). The potential of arthemether for the control of Schistosomiasis. *Int. J. Parasitol.* 31: 1549-1562
48. **Xiao S H., Tanner M., N'Goran E K., Utzing J., Chollet J., Bergquist R., Chen M., and Zheng J.** (2002). Recent investigations of arthemether, a novel agent for the prevention of schistosomiasis japonica, mansoni and haematobia. *Acta trop.* 82: 175-181.
49. **Van Dam G., Dood C., Kornelis D., Deelder A. and many teams of respected collaborators in Kenya, Uganda, Zimbabwe, Mali, Tanzania, South-Africa, Denmark, UK, Senegal.** (2008). Validation of urine CCA strips for (field) diagnosis of active *S. mansoni* infections
50. **Manson B. and Bell D R.** (1987). *Mansons Tropical Diseases*, 19th edition, edited by P.E.C., illustrated by Bailliere Tindall, W.B. Saunders, London, Pages. XVII 1557 pages 463-465
51. **Madwar M A., Voller A.** (1975). Circulating soluble antigens and antibody in schistosomiasis. *Brit Med J* i:435–436
52. **Butterworth A E., Dalton P R., Dunne D.W. Mugambi M., Ouma J H., Richardson B A., Siongok T K. and Sturrock R F.** (1984). Immunity after treatment of human Schistosomiasis mansoni. I. Study design, pretreatment observations and the results of treatment. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 78:108-123
53. **Dabo A., Sissoko M., Audibert M., Diakité M., Diarra A., Diallo M., Doumbia S., Landouré A., Doumbo O.** (2005). Impact de la chimiothérapie de masse au praziquantel sur l'infection due à *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma mansoni* à l'Office du Niger, Mali. *MaliMed.* page 5
54. **MS- Mali,** (2004). Profil national du Mali sur le Statut environnement Sain pour les enfants, Programme Mali-OMS. DNS Mali. page 42
55. **Clements A., Bosque Oliva E., Sacko M., Landoure A., Dembele R., Traore M., Coulibaly G., Gabrielli A F., Fenwick A., Brooker S.** (2009). A Comparative Study of the Spatial Distribution of Schistosomiasis in Mali in 1984–1989 and 2004–2006. *PLoS Neglected Tropical Disease.* page 11

56. **Sy I., Diawara L., Ngabo D., Barbier D., Dreyfuss G., Georges P.** (2008). Bilharzioses au Sénégal oriental prévalence chez les enfants de la Région de Bandafassi. *Med Trop*; 68 : 267-271
57. **Gaud J.**, (1955). Les bilharzioses en Afrique occidentale et en Afrique centrale. *Bulletin OMS* 13 : 209-258.
58. **N'Goran E K., Utzinger J., Traore M., Lengeler C., Tanner M.** (1998). Identification rapide par questionnaire des principaux foyers de bilharziose urinaire au centre de la Cote d'Ivoire. *Médecine tropicale*. vol. 58, n°3, pp. 253-260
59. **WHO.** (2002). Schistosomiasis and soil transmitted helminth infections. Fifty-fourth World Health Assembly, resolution WHA54.19. Geneva : World Health Organization.
60. **Fenwick A., Savioli L., Engels D., Berquist N R., and Todd M H.** (2003). Drugs for the use control of parasitic diseases : current status and development in schistosomiasis. *Trends Parasitol.* 19 : 509-515.
61. **OMS.** (1984). Le rôle de la chimiothérapie dans la lutte contre la schistosomiase, *World health Organization*. Schistosomiasis. 83-70.
62. **Taylor P., Chandiwana S K., Matanhire D.** (1990). Evaluation of the reagent strip test for haematuria in the control of *Schistosoma haematobium* infection in schoolchildren. *Acta Tropica*, 47 91-100
63. **WHO** (1983). Urine filtration technique for *Shistosoma haematobium* infection. WHO Geneva, PDP/83.4.
64. **WHO** (1983). Cellophane thick smear examination technique (Kato) for diagnosis of intestinal Schistosomiasis and gastrointestinal helminth infections. WHO, Geneva, PDP/83.3.
65. **Sacko M., Magnussen P., Traore M., Landouré A., Doucouré A., Reimert C M., Vennervald B J.** (2009). The effect of single dose versus two doses of praziquantel on *Schistosoma haematobium* infection and pathology among school aged children in Mali. Cambridge University Press Parasitology pages 7
66. **Woolhouse M E J. and Hagan P.** (1999). Seeking the ghost of worm past. *Nat. Med.* 5, 1225-1227
67. **Andrew S P.** (1985). Praziquantel: mechanism of anti-schistosomal activity. *Pharmacol. Ther.* 29, 129-156
68. **Fallon P G. and Doenhoff M J.** (1995). Active immunisation of mice with *Schistosoma mansoni* worm membrane antigens enhances efficacy of praziquantel. *Parasite Immunol.* 17, 261-268
69. **Kimani G., Chung C N., Gachihi G., Kamau T., Mungai B. and Mkoji G M.** (1992). Immune responses after treatment for *Schistosoma mansoni* infection. *Scand.J. Immunol. Suppl.* 11: 29-33

70. **Grogan J L., Kreamsner P J., Deelder A M. and Yzdambakhsh M.** (1996). Elevated proliferation and interleukin-4 release from CD-4 cells after chemotherapy in human *Schistosoma haematobium* infection. *Eur. J. Immunol.* 26: 1365-1370
71. **Appleton C. and Mbaye A.** (2001). Praziquantel quality dosages and markers of resistance. *Trends Parasitol.* 17, 356-357
72. **Doenhoff M., Kimani G., Cioli D.** (2000). Praziquantel and the control of schistosomiasis. *Parasitol. Today* 16, 364-366
73. **Katz N., Chaves A. and Pellegrino J.** (1972). A simple device for quantification stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Revista do instituto de Medecina Tropical de Sao Paulo*, 14, 397-400.
74. **Peters P.A., Warren K S. and Mahmoud A A F.** (1976). Rapid, accurate quantification of schistosome eggs via Nucleopore filters. *Journal of Parasitology*, 62, 154-155
75. **Richter J., Hatz C., Campagne G., Berquist N. and Jenkins J.** (2000). *Ultrasound in Schistosomiasis : A Pratical Guide to the Standardized Use of Ultrasonography for assessment of Scistosomiasis related Morbidity:* World Health Organization, WHO/TDR/STR/SCH/001, Geneva: World Health Organization.
76. **Stothard J R., Kabatereine N B., Tukahebwa E M., Kazibwe F., Rollinson D., Mathieson W., Webster J.P. and Fenwick A.** (2006). Use of circulating cathodic antigen (CCA) dipstick for detection of intestinal and urinary schistosomiasis. *Acta Tropica.* 97: 219-228.
77. **Keita A D., Sangho H., Sacko M., Diarra Z., Simaga S Y. and Traore I.** (2005). Prevalence of Schistosomiasis lesions detected by ultrasonography in children in Molodo, Mali. *Gastroenterologie Clinique et biologique*, 29: 652-655.
78. **Kahama A I., Kreamsner P.G., Van Dam G J. and Deelder A M.** (1998). The dynamics of soluble egg antigen of *Schistosoma haematobium* in relation to egg counts, circulating anodic and cathodic antigens and pathologie markers before and after chemotherapy. *Transactions of the Royal Society of Tropical and Hygiene*, 92: 629-633
79. **Richter J.** (2003). The impact of chemotherapy on morbidity due to Schistosomiasis. *Acta Trop.* 86: 161-183
80. **Hatz CFR.** (2001). The use of ultrasound in schistosomiasis. *Adv Parasitol.* 48: 225-284
81. **Richter J., Hatz C., Haussinger D.** (2003). Ultrasound in tropical and parasitic disease. *Lancet.* 362: 900-902
82. **Niamey Working Group.** (2000). *Ultrasound in schistosomiasis : a practical guide to the standardized use of ultrasonography for the assessment of Schistosomiasis-related morbidity.* Geneva: World Health Organization
83. **Lawmbo N J., Savioli L., Kisumku U M., Alawi K S. and Bundy D A.** (1997). The relationship between prevalence of *Schistosoma haematobium* infection and different

morbidity indicators during the course of a control programme on Pemba Island. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 91: 643-646

84. **Magnussen, P.** (2003). Treatment and re-treatment strategies for schistosomiasis control in different epidemiological settings: a review of 10 year's experience. Acta Tropica, 86: 243-254

85. **Savioli, L., Dixon, H., Kisumku, U.M., Mott, K.E.** (1989). Control of morbidity due to *Schistosoma haematobium* on Pemba island; selective population chemotherapy on schoolchildren with haematuria to identify high-risk localities. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 83: 805-810

86. **Slifman, N.R., Loegering, D.A., McKean, D.J., Gleich, G.J.** (1986). Ribonuclease activity associated with human eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein. J Immunol 137: 2913-2917

87. **Leutscher P D., Reimert C M., Vennervald B J., Ravaoalimalala V E., Ramarokoto C E., Serieye J., Raobelison A., Rasendramino M., Christensen N O., Esterre P.** (2000). Morbidity assessment in urinary Schistosomiasis infection through ultrasonography and measurement of eosinophil cationic protein (ECP) in urine. Trop Med Int Health. 5 : 88-93

88. **Kjetland E., Poggensee G., Helling-Giese G., Richter J., Sjaastad A., Chitsulo L., Kumwenda N., Gundersen S., Krantz I., Feldmeier H.** (1996). Female genital schistosomiasis due to *Schistosoma haematobium*. Clinical and parasitological findings in women in rural Malawi. Acta Tropica 62: 239-255

89. **Traore M.** (1994). A study of the epidemiology of schistosomiasis in Mali : Towards a rationally based national control program. PhD. Thesis, University of London

90. **INSTAT.** (2010). Le 4ème Recensement Général de la population et de l'Habitat du Mali

ANNEXES

Annexe 1: Fiche signalétique :

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : KONATE

Prénom : Ousmane Hamadoun

Titre de la thèse : *Applicabilité de la technique ELISA dans la détection de protéine cationique d'éosinophile et de neurotoxine dévirée des éosinophiles en cas de bilharziose urinaire au Mali*

Année universitaire : 2009 - 2010

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : MALI

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS)

Secteur d'intérêt : Laboratoire, Santé Publique

Résumé :

La bilharziose, 2ème maladie parasitaire sur le plan mondial après le paludisme avec près de 200 millions de personnes infectées dans le monde selon l'OMS (2010), est un véritable problème de santé publique le long de nos fleuves et points d'eau.

Dans le souci de réduire ce problème, notre étude avait pour but l'évaluation de l'applicabilité d'une nouvelle méthode immunologique de diagnostic de certaines protéines produites lors d'une infection bilharzienne (ECP et EPX) au Mali.

Cette étude, transversale à passage unique, s'étendait sur 3 villages d'une même commune (Souba) de la région de Ségou avec un échantillon de 110 individus inclus. Par transfert de technologie provenant du Danemark, nous avons aménagé un laboratoire au sein du service de parasitologie de l'INRSP sis à Bamako-coura afin de mener à bien nos analyses.

Après avoir procédé aux différentes analyses, nous avons noté une prévalence globale de 68,86% (N=167) de *Schistosoma haematobium* et 8,98% (N=167) de *Schistosoma mansoni*. Avec 110 individus inclus dans notre étude, les tests parasitologiques nous ont révélé une prévalence de 77,3% de bilharziose urinaire, et 22% de bilharziose intestinale avec 11 cas de coinfections sur les 110.

Les résultats immunologiques, quant à elles, nous ont permis de noter une prévalence de 79,09% (N=110) de *Schistosoma haematobium*. La détermination de la sensibilité, de la spécificité et de l'efficacité de la méthode immunologique en ayant comme gold standard les examens parasitologiques a permis de choisir le cut-off adéquat pour ECP et EPX. Puis à travers les résultats immunologiques pour ECP, nous avons constaté une bonne corrélation entre la charge ovulaire du *Schistosoma haematobium* et la concentration d'ECP dans les urines avec un seuil de positivité de 5ng/ml ($p < 0,001$).

Quant à EPX, il a fallu pousser le seuil jusqu'à 500ng/ml pour avoir une efficacité de 0,79. Après confrontation de nos résultats avec des études antérieures, nous avons constaté que le score obtenu pour ECP reflète un peu les normes. EPX (dont la prévalence notée est de presque 100%), présente une positivité telle, qu'elle pourrait être due à un élément autre que bilharzien dans les urines analysées.

En plus des cas positifs selon le test parasitologique, des individus considérés sains par ce même test ont présentés un résultat positif au test immunologique, et la zone étant fortement endémique, ces résultats ne doivent pas être négligés car un diagnostic précis favorise l'établissement d'une meilleure stratégie de traitement.

Mots clés : ELISA, ECP, EPX ; Bilharzioses ; INRSP, MALI

Annexe 2: Fiche d'enquête :

FICHE D'ENQUETE INDIVIDUELLE

I) Données anthropométriques:

Date...../...../.....
Numéro d'identification.....Cercle.....Village.....
Famille.....Numéro.....
Nom et Prénom.....
Age.....Sexe.....Ethnie.....

II) Questionnaire:

(Symptomatologie)

Sang dans les urines	Douleurs pelviennes	Dysurie	Douleurs abdominales	Diarrhée	Sang dans selles

III) Examens parasitologique des selles:

(œufs par gramme de selle)

<i>Schistosoma mansoni</i>	Ankylostome	<i>Ascaris</i>	<i>Trichuris</i>	<i>H. nana</i>	Autres

IV) Examens parasitologiques des urines:

Macro hématurie	Micro hématurie	<i>Schistosoma haematobium</i> (œufs/10ml d'urine)

V) Examens immunologique des urines:

ECP (ng/ml)	EPX (ng/ml)

Eosinophil Cationic Protein (ECP) - ELISA
Standard Operating Procedure
 Updated on 21-11-2007

Procedure

Step 1 Coating of plate(s) with Ra-anti-hu-ECP-Ab

Prepare a 1:10,000 solution of Ra-anti-hu-ECP-Ab diluted 10,000 in coating buffer.

1 plate: add 1.2 µl Ab to 12 ml coating buffer and mix well

5 plates: add 5.5 µl Ab to 55 ml coating buffer and mix well

Add 100 µl/well, seal the plates with plate sealing tape and store them in the fridge at 4°C.

Plates are **ready for use after 48 hours**, and can be used for up to 5 weeks.

Alternatively using Semi kit prepared for 12 plates:

1). Add 0.5 ml coating buffer to the vial. Let it soak for 5 minutes and flush the vial with the 0.5 ml content.

2). Transfer the 0.5 ml to 120 ml coating buffer.

3). Rinse the vial three times with 0.5 ml coating solution to make sure that all antibodies are dissolved in the 120 ml.

4). Add 100 µl/well, seal the plates with plate sealing tape and store them in the fridge at 4°C. Plates are **ready for use after 48 hours**, and can be used for up to 5 weeks.

Step 2 Wash

Empty the plate and wash **3 times** in washing buffer, 300 µl/well.

Step 3 Blocking

Block the additional protein binding sites by adding 300 µl/well of washing buffer and incubate the plates at room temperature, for at least **15 minutes** until application of standards and samples.

Step 4 Dilution and application of standards and samples

Standards: Prepare the 7 standard dilutions, ranging from 1000 pg/ml to 15.75 pg/ml, by 2 fold dilutions, of the 1000 pg/ml ECP standard, in sample-buffer and the "blank/negative control" (sample buffer only).

Samples: Samples processed and diluted according to SOP Dilute samples at least 10 times in sample-buffer.

Add standards, blank and samples to the plate in duplicate wells, 100 µl / well, according to design below.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Sample _n	Sample _n									
B	15.62 pg/ml	Sample _n	Sample _n									
C	31.25 pg/ml	Sample _n	Sample _n									
D	62.5 pg/ml	Sample _n	Sample _n									
E	125 pg/ml	Sample _n	Sample _n									
F	250 pg/ml	Sample _n	Sample _n									
G	500 pg/ml	Sample _n	Sample _n									
H	1000 pg/ml	Sample _n	Sample _{n+10}	Sample _{n+10}								

Incubate plate(s) overnight in the fridge at 4°C or 2 hours on a shaking table at room temperature

Eosinophil Cationic Protein (ECP) - ELISA
Standard Operating Procedure
Updated on 21-11-2007

3

Procedure (continued)

Step 5 Wash

Empty the plate and wash 3 times in washing buffer, 300 µl/well.

Step 6 Incubation with biotin-Ra-anti-hu-ECP-Ab

Dilute biotin-Ra-anti-hu-ECP-Ab 1: xx in washing buffer (batch dependent)

For 1 plate xx ml buffer + xxµl antibody

For 4 plates xx ml buffer + xxµl antibody

Mix well and add 100 µl / well.

Incubate plates 2 hours at 37°C or for two hours at room temperature under constant stirring.

Alternatively using Semi kit (prepared for 4 plates:

- 1). Add 0.5 ml washing buffer to the vial. Flush the vial with the 0.5 ml content.
- 2). Transfer the 0.5 ml to 40 ml washing buffer.
- 3). Rinse the vial three times with 0.5 ml coating solution to make sure that all conjugated antibodies are dissolved in the 40 ml.
- 4). Add 100 µl/well, seal the plates with plate sealing tape and incubate plates 2 hours at 37°C or for two hours at room temperature under constant stirring.

Step 7 Wash

Empty the plate and wash 3 times in washing buffer, 300 µl/well.

Step 8 Incubation with avidin-peroxidase conjugate

Prepare the avidin-peroxidase conjugate solution: avidin-peroxidase conjugate diluted 1:5000 times in washing buffer. (batch dependent)

For 1 plate 12 ml buffer + 2.4µl avidin-peroxidase conjugate

For 4 plates 48 ml buffer + 9.6 µl avidin-peroxidase conjugate

Add 100 µl / well of the avidin-peroxidase conjugate solution and incubate the plates for 30 minutes on a shaking table.

Step 9 Wash

Empty the plate and wash 3 times in washing buffer, 300 µl/well.

Step 10 Development of the plates

Prepare enzyme-substrate solution

1 plate: 4 OPD- tablets dissolved in 12 ml dest. H₂O + 5 µl (30%) H₂O₂

4 plates 14 OPD-tablets dissolved in 42 ml dest H₂O + 17.5µl (30%) H₂O₂

Add 100 µl/well of the enzyme-substrate solution and incubate the plates.

Stop the enzyme reaction / colour development after maximum 30 minutes incubation by addition of stop solution (0.5 M H₂SO₄), 50 µl / well.

Step 11 Reading of plates

Read the plates at 490 nm with a 620 nm reference filter

Preparation of samples for ECP analysis

Samples must be extracted in cases where the samples contain cellular material or solid material and the need is to measure the total amount ECP is needed.

Eosinophil protein X (EPX) - ELISA
Standard Operating Procedure
 Updated on 21-11-2007

2

Procedure

Step 1 Coating of plate(s) with Ra-anti-hu-EPX-Ab

Prepare a 1:10,000 solution of Ra-anti-hu-EPX-Ab diluted 10,000 in coating buffer.

1 plate: add 1.2 µl Ab to 12 ml coating buffer and mix well

5 plates: add 5.5 µl Ab to 55 ml coating buffer and mix well

Add 100 µl/well, seal the plates with plate sealing tape and store them in the fridge at 4 °C.

Plates are **ready for use after 48 hours**, and can be used for up to 5 weeks.

Alternatively using Semi kit prepared for 12 plates:

- 1). Add 0.5 ml coating buffer to the vial. Let it soak for 5 minutes and flush the vial with the 0.5 ml content.
- 2). Transfer the 0.5 ml to 120 ml coating buffer.
- 3). Rinse the vial three times with 0.5 ml coating solution to make sure that all antibodies are dissolved in the 120 ml.
- 4). Add 100 µl/well, seal the plates with plate sealing tape and store them in the fridge at 4 °C. Plates are **ready for use after 48 hours**, and can be used for up to 5 weeks.

Step 2 Wash

Empty the plate and wash **3 times** in washing buffer, 300 µl/well.

Step 3 Blocking

Block the additional protein binding sites by adding 300 µl/well of washing buffer and incubate the plates at room temperature, for at least **15 minutes** or until application of standards and samples.

Step 4 Dilution and application of standards and samples

Standards: Prepare the 7 standard dilutions, ranging from 1000 pg/ml to 15.62 pg/ml, by 2 fold dilutions, of the 1000 pg/ml EPX standard, in sample-buffer and the "blank/negative control" (sample buffer only).

Samples: Samples processed and diluted according to SOP. Dilute samples at least 10 times in sample-buffer.

Add standards, blank and samples to the plate in duplicate wells, 100 µl / well, according to design below.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n	
B	31.25 pg/ml		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n	
C	62.5 pg/ml		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n	
D	125 pg/ml		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n	
E	250 pg/ml		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n	
F	500 pg/ml		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n	
G	1000 pg/ml		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n	
H	2000 pg/ml		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _n		Sample _{n+40}	

Incubate plate(s) overnight in the fridge at 4 °C or 2 hours on a shaking table at room temperature

MUSTSchistUKEMA,
 "Multi-disciplinary studies of human schistosomiasis in Uganda, Kenya and Mali:
 New perspectives on morbidity, immunity, treatment and control
 INCO Contract No: 517733

Eosinophil protein X (EPX) - ELISA
Standard Operating Procedure
Updated on 21-11-2007

3

Procedure (continued)

Step 5 **Wash**

Empty the plate and wash 3 times in washing buffer, 300 µl/well.

Step 6 **Incubation with biotin-Ra-anti-hu-EPX-Ab**

Dilute biotin-Ra-anti-hu-EPX-Ab 1: xx(according to batch) in washing buffer

For 1 plate xx ml buffer + xxµl antibody

For 4 plates xx ml buffer + xxµl antibody

Mix well and add 100 µl / well.

Incubate plates 2 hours at 37°C or for two hours at room temperature under constant stirring.

Alternatively using Semi kit (prepared for 4 plates:

- 1). Add 0.5 ml washing buffer to the vial. Flush the vial with the 0.5 ml content.
- 2). Transfer the 0.5 ml to 40 ml washing buffer.
- 3). Rinse the vial three times with 0.5 ml washing buffer/biotin Ab solution to make sure that all conjugated antibodies are dissolved in the 40 ml.
- 4). Add 100 µl/well, seal the plates with plate sealing tape and incubate plates 2 hours at 37°C or for two hours at room temperature under constant stirring.

Step 7 **Wash**

Empty the plate and wash 3 times in washing buffer, 300 µl/well.

Step 8 **Incubation with avidin-peroxidase conjugate**

Prepare the avidin-peroxidase conjugate solution: avidin-peroxidase conjugate diluted 1:5000 in washing buffer.

For 1 plate 12 ml buffer + 2.4 µl avidin-peroxidase conjugate

For 4 plates 48 ml buffer + 9.6 µl avidin-peroxidase conjugate

Add 100 µl / well of the avidin-peroxidase conjugate solution and incubate the plates for 30 minutes on a shaking table.

Step 9 **Wash**

Empty the plate and wash 3 times in washing buffer, 300 µl/well.

Step 10 **Development of the plates**

Prepare enzyme-substrate solution

1 plate: 4 OPD- tablets dissolved in 12 ml dest. H₂O + 5 µl (30%) H₂O₂

4 plates: 14 OPD-tablets dissolved in 42 ml dest H₂O + 17.5µl (30%) H₂O₂

Add 100 µl/well of the enzyme-substrate solution and incubate the plates.

Stop the enzyme reaction / colour development after maximum 30 minutes incubation by addition of stop solution (0.5 M H₂SO₄), 50 µl / well.

Step 11 **Reading of plates**

Read the plates at 490 nm with a 620 nm reference filter

Preparation of samples for EPX analysis.

Samples must be extracted in cases where the samples contain cellular material or solid material and the need is to measure the total amount EPX is needed.

MUSTSchistUKEMA,

"Multi-disciplinary studies of human schistosomiasis in Uganda, Kenya and Mali:

New perspectives on morbidity, immunity, treatment and control

INCO Contract No: 517733

Annexe 4 : Exemple d'un résultat ECP

Ascent Software

Curve Fit1

26/03/2008 3:19

Session: C:\ASCSW26\ECP_DATA\U_ECP001.SEE
 Instrument: MULTISKAN EX PRIMARY EIA V. 2.3
 User name: CR
 Started at: 25/03/2008 16:16:53
 Actual temperature: Amb.temp.

Comment:

VECP_001

Layout map for calibrators Sheet: Blank1, Assay: Assay1 and for samples Sheet: Blank1, Assay: Assay1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Blank	Urine 1	Urine 1	Urine 9	Urine 9	Urine 17	Urine 17	Urine 25	Urine 25	Urine 33	Urine 33
B	Cal_1	Cal_1	Urine 2	Urine 2	Urine 10	Urine 10	Urine 18	Urine 18	Urine 26	Urine 26	Urine 34	Urine 34
C	Cal_2	Cal_2	Urine 3	Urine 3	Urine 11	Urine 11	Urine 19	Urine 19	Urine 27	Urine 27	Urine 35	Urine 35
D	Cal_3	Cal_3	Urine 4	Urine 4	Urine 12	Urine 12	Urine 20	Urine 20	Urine 28	Urine 28	Urine 36	Urine 36
E	Cal_4	Cal_4	Urine 5	Urine 5	Urine 13	Urine 13	Urine 21	Urine 21	Urine 29	Urine 29	Urine 37	Urine 37
F	Cal_5	Cal_5	Urine 6	Urine 6	Urine 14	Urine 14	Urine 22	Urine 22	Urine 30	Urine 30	Urine 38	Urine 38
G	Cal_6	Cal_6	Urine 7	Urine 7	Urine 15	Urine 15	Urine 23	Urine 23	Urine 31	Urine 31	Urine 39	Urine 39
H	Cal_7	Cal_7	Urine 8	Urine 8	Urine 16	Urine 16	Urine 24	Urine 24	Urine 32	Urine 32	Urine 40	Urine 40

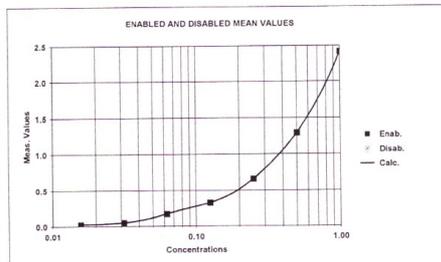
Source data for calibrators Sheet: Blank1, Assay: Assay1 and for samples Sheet: Blank1, Assay: Assay1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,002	-0,002	3,274	3,222	3,478	3,575	0,645	0,646	3,031	3,332	3,031	3,274
B	0,036	0,012	3,100	3,003	3,003	2,949	1,393	1,484	3,138	3,100	2,480	2,556
C	0,059	0,043	3,181	3,320	1,565	1,576	2,348	2,533	3,223	3,223	2,732	3,019
D	0,173	0,320	0,344	0,369	3,513	2,982	1,236	1,310	2,765	2,797	0,355	0,384
E	0,323	0,331	3,871	3,362	0,674	0,535	1,066	1,132	3,207	3,128	0,051	0,067
F	0,654	0,666	3,421	3,296	3,421	3,863	3,199	3,296	3,863	3,421	1,457	1,485
G	1,293	1,290	0,381	0,407	3,260	3,311	3,879	3,737	3,369	3,260	0,051	0,093
H	2,429	2,401	0,644	0,667	0,522	0,594	3,605	3,429	0,270	0,262	0,150	0,178

Sheet: Blank1, Assay: Assay1

Name	Meas.	Conc.
Cal_1	0,036	
	<u>0,012</u>	
	0,024	0,016
Cal_2	0,059	
	<u>0,043</u>	
	0,051	0,031
Cal_3	0,173	
	<u>0,320</u>	
	0,173	0,063
Cal_4	0,323	
	<u>0,331</u>	
	0,327	0,125
Cal_5	0,654	
	<u>0,666</u>	
	0,660	0,250
Cal_6	1,293	
	<u>1,290</u>	
	1,292	0,500
Cal_7	2,429	
	<u>2,401</u>	
	2,415	1,000

	Conc.	Meas.	CalcConc.	Residual
Cal_1	0,016	0,024	0,016	-7,63E-06
Cal_2	0,031	0,051	0,031	7,63E-06
Cal_3	0,063	0,173	0,062	7,63E-06
Cal_4	0,125	0,327	0,125	7,63E-06
Cal_5	0,250	0,660	0,250	1,53E-05
Cal_6	0,500	1,292	0,500	3,05E-05
Cal_7	1,000	2,415	1,000	6,10E-05



Mean Blank 0,236

Status:
 Remark: Bold values are extrapolated
 Fit type: Cubic spline
 Meas. transformation: Linear
 Conc. transformation: Linear

Calculated concentrations Sheet: Blank1, Assay: Assay1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-0,001	-0,004	13,890	13,654	14,814	15,253	2,448	2,451	12,789	14,152	12,789	13,890
B	0,024	0,006	13,102	12,663	12,663	12,418	5,439	5,835	13,274	13,102	10,294	10,638
C	0,034	0,028	13,469	14,098	6,190	6,238	9,697	10,534	13,659	13,659	11,435	12,735
D	0,062	0,121	1,332	1,444	14,972	12,568	4,762	5,080	11,585	11,730	1,382	1,507
E	0,123	0,127	16,593	14,288	2,549	2,069	4,048	4,322	13,586	13,229	0,312	0,366
F	0,248	0,252	14,555	13,989	14,555	16,557	13,550	13,989	16,557	14,555	5,717	5,839
G	0,501	0,499	1,495	1,601	13,826	14,057	16,629	15,986	14,320	13,826	0,312	0,436
H	1,006	0,994	2,445	2,525	2,024	2,272	15,389	14,592	0,960	0,924	0,569	0,638

Pages: 1/4

Annexe 5 : Exemple d'un résultat EPX

Ascent Software

Curve Fit1

26/03/2008 5:02

UEPX_002

Session: C:\ASCSW26\IECP_DATA\IEPX_100.SEE
 Instrument: MULTISKAN EX PRIMARY EIA V. 2.3
 User name: CR
 Started at: 25/03/2008 17:00:03
 Actual temperature: Amb.temp.

Comment:

Layout map for calibrators Sheet: Blank1, Assay: Assay1 and for samples Sheet: Blank1, Assay: Assay1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Blank	Urine 1	Urine 1	Urine 9	Urine 9	Urine 17	Urine 17	Urine 25	Urine 25	Urine 33	Urine 33
B	Cal_1	Cal_1	Urine 2	Urine 2	Urine 10	Urine 10	Urine 18	Urine 18	Urine 26	Urine 26	Urine 34	Urine 34
C	Cal_2	Cal_2	Urine 3	Urine 3	Urine 11	Urine 11	Urine 19	Urine 19	Urine 27	Urine 27	Urine 35	Urine 35
D	Cal_3	Cal_3	Urine 4	Urine 4	Urine 12	Urine 12	Urine 20	Urine 20	Urine 28	Urine 28	Urine 36	Urine 36
E	Cal_4	Cal_4	Urine 5	Urine 5	Urine 13	Urine 13	Urine 21	Urine 21	Urine 29	Urine 29	Urine 37	Urine 37
F	Cal_5	Cal_5	Urine 6	Urine 6	Urine 14	Urine 14	Urine 22	Urine 22	Urine 30	Urine 30	Urine 38	Urine 38
G	Cal_6	Cal_6	Urine 7	Urine 7	Urine 15	Urine 15	Urine 23	Urine 23	Urine 31	Urine 31	Urine 39	Urine 39
H	Cal_7	Cal_7	Urine 8	Urine 8	Urine 16	Urine 16	Urine 24	Urine 24	Urine 32	Urine 32	Urine 40	Urine 40

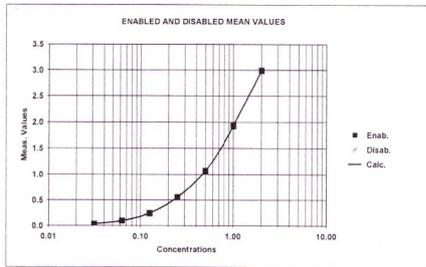
Source data for calibrators Sheet: Blank1, Assay: Assay1 and for samples Sheet: Blank1, Assay: Assay1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,038	-0,038	3,394	3,160	1,465	1,454	1,474	1,483	2,938	2,917	3,063	3,035
B	0,029	0,037	3,640	3,640	3,640	3,640	3,339	3,339	3,242	2,795	2,737	3,201
C	0,099	0,096	2,888	2,888	1,169	1,188	2,924	2,905	2,924	2,905	2,905	3,030
D	0,245	0,245	2,896	2,896	3,100	3,431	3,498	3,046	2,298	2,337	3,498	2,878
E	0,579	0,532	2,909	2,890	-0,046	-0,055	3,935	3,425	2,492	2,571	3,492	2,890
F	1,070	1,067	1,346	1,405	2,900	2,882	3,359	3,563	3,262	3,221	3,359	3,660
G	1,970	1,894	1,324	1,343	2,403	2,354	2,916	2,916	1,796	1,855	2,786	2,786
H	3,015	2,969	2,464	2,464	3,094	3,124	2,765	2,779	3,191	3,367	2,765	2,765

Sheet: Blank1, Assay: Assay1

Name	Meas.	Conc.
Cal_1	0,029 <u>0,037</u>	0,031
Cal_2	0,099 <u>0,096</u>	0,063
Cal_3	0,245 <u>0,245</u>	0,125
Cal_4	0,579 <u>0,532</u>	0,250
Cal_5	1,070 <u>1,067</u>	0,500
Cal_6	1,970 <u>1,894</u>	1,000
Cal_7	3,015 <u>2,969</u>	2,000

	Conc.	Meas.	CalcConc.	Residual
Cal_1	0,031	0,033	0,031	-7,63E-06
Cal_2	0,063	0,098	0,062	7,63E-06
Cal_3	0,125	0,245	0,125	7,63E-06
Cal_4	0,250	0,556	0,250	1,53E-05
Cal_5	0,500	1,069	0,500	3,05E-05
Cal_6	1,000	1,932	1,000	6,10E-05
Cal_7	2,000	2,992	2,000	0,000



Mean Blank 0,178
 Status:
 Remark: Bold values are extrapolated
 Fit type: Cubic spline
 Meas. transformation: Linear
 Conc. transformation: Linear

Calculated concentrations Sheet: Blank1, Assay: Assay1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,034	-0,004	247,579	219,884	71,625	71,002	72,125	72,638	193,616	191,150	208,403	205,089
B	0,029	0,033	276,695	276,695	276,695	276,695	241,070	241,070	229,589	176,990	170,471	224,737
C	0,063	0,062	187,732	187,732	55,374	56,393	191,956	189,734	191,956	189,734	189,734	204,498
D	0,125	0,125	188,684	188,684	212,783	251,959	259,889	206,391	127,551	130,872	259,889	186,560
E	0,260	0,240	190,198	187,976	-0,790	-1,237	311,610	251,248	145,056	152,844	259,178	187,976
F	0,501	0,499	64,996	68,256	189,148	187,048	243,437	267,582	231,956	227,104	243,437	279,062
G	1,026	0,975	63,788	64,825	136,731	132,361	191,028	191,028	91,193	94,940	175,964	175,964
H	2,027	1,973	142,371	142,371	212,072	215,623	173,596	175,183	223,553	244,384	173,596	173,596

Annexe 6 : Quelques images prises lors de l'étude

Tri des échantillons pour extraction :



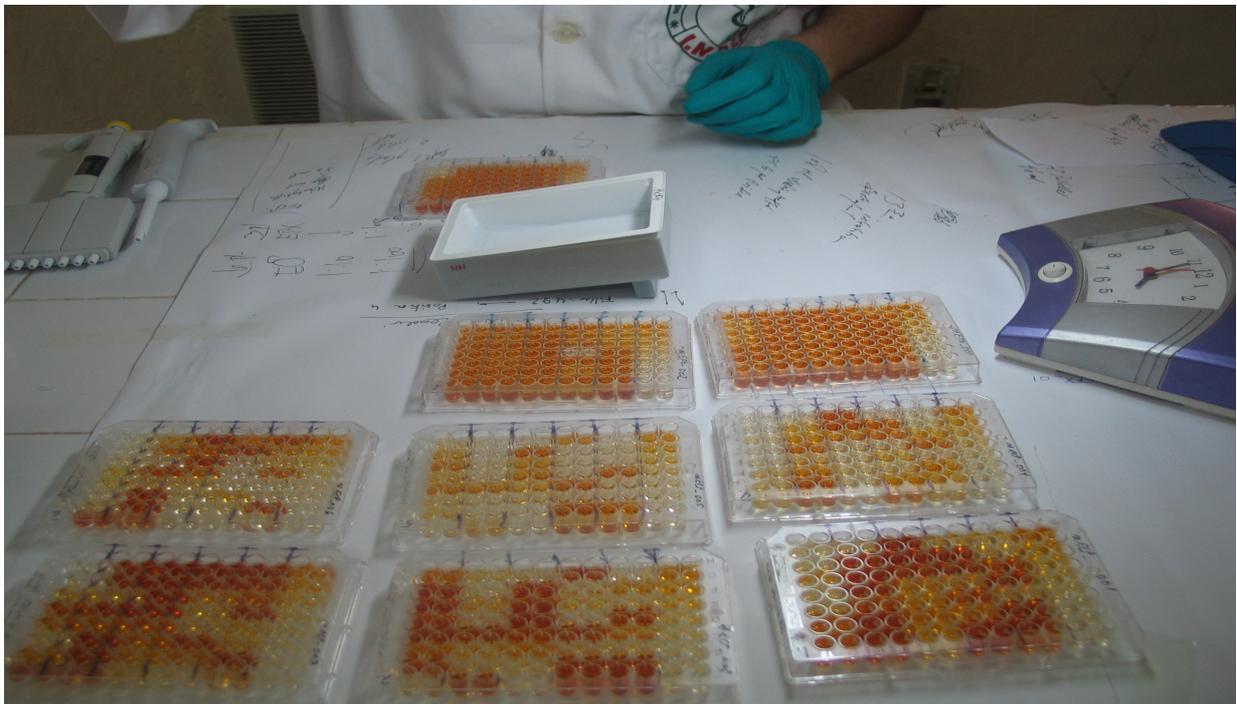
Phase d'extraction des protéines ECP et/ou EPX de nos échantillons:



Formation à la technique ELISA par le Pr. Reimert C.M. et son assistante Dr Kremer S :



Révélation de la présence des protéines ECP et EPX dans nos échantillons sur plaque (nos premiers résultats) :



Le Pr Reimert C.M. et le Dr Sacko M. lors de l'installation de l'appareil de lecture « MultiScan »



Détermination des densités optiques de nos échantillons sur la microplaque par l'appareil MULTISCAN :



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 des actes criminels.

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

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

