



Ministère de l'Enseignement

République du Mali

Supérieur et de la

Un Peuple – Un But – Une Foi

Recherche Scientifique



FACULTÉ DE MÉDECINE ET D'ODONTO – STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2011-2012

**EVALUATION ENTOMOLOGIQUE DANS LES SITES SENTINELLES DU
PROGRAMME NATIONAL D'ELIMINATION DE LA FILARIOSE
LYMPHATIQUE AVANT ET APRES LE PREMIER TRAITEMENT DE MASSE
DANS LA REGION DE SIKASSO AU MALI**

Thèse présentée et soutenue publiquement le/...../2012 devant la
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par M. Mama Camara

Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine (DIPLOME D'ETAT)

Jury

Président: Pr Sékou Fantamady TRAORE

Membre: Dr SOUMARE Massitan DEMBELE

Co-directeur: Dr Yaya Ibrahim COULIBALY

Directeur de thèse: Pr Seydou DOUMBIA

Dédicaces

Je dédie ce document

A Dieu

Le Tout Puissant, Clément et Miséricordieux

pour m'avoir donné la force nécessaire et le

courage pour la réalisation de ce travail.

A mon père: Feu Akoye Camara

Toi qui m'as donné la vie, ma volonté d'homme était de te voir parmi ce monde assis ici aujourd'hui pour voir le résultat de ce travail, mais le bon Dieu en a décidé autrement. De ton vivant ton souhait a été toujours de nous voir réussir à l'école et voici aujourd'hui le résultat de tes efforts consentis en ma faveur.

Que Dieu le Tout Puissant te pardonne et qu'il t'accepte dans son paradis.

A ma mère: Aminata Dembélé

Tu représentes pour moi la femme exemplaire soucieuse de l'avenir de ses enfants. Tes prières, ton affection maternelle, tes soutiens tant psychologiques que matériels ne m'ont jamais fait défaut. Ce travail est le fruit de tes sacrifices consentis pour moi.

Puisse Dieu te prêter longue vie et une bonne santé afin que tu puisses continuer à guider mes pas.

Mes remerciements

A ma tante: Dr SOUMARE Massitan Dembélé

Les mots me manquent pour qualifier ce que tu as été et ce que tu es pour moi. Je formule les vœux suivants pour toi: que Dieu le Tout Puissant te donne une bonne santé, une longue vie avec beaucoup de succès. Qu'il bénisse ta famille ainsi que tout ce qui te sont chers.

A mes frères et sœurs:

Alfousseyni Camara, Dr Souleymane Samaké, Mohamed Camara, Aissata Camara, Korotoumou Camara

Je n'exprimerai jamais assez tout l'amour que je ressens pour vous. Je vous souhaite beaucoup de courage et de chance dans la vie pour qu'ensemble, nous puissions adoucir et remplir de bonheur les vieux jours de nos parents.

A tous mes encadreurs et les personnels du **DEAP/MRTC** de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (**FMPOS**) et des Instituts Nationaux de la Santé (**NIH**); plus particulièrement à mes maîtres dont les noms suivent:

-Professeur Yeya Tiémoko TOURE;

-Docteur Richard SAKAI;

-Professeur Ogobara DOUMBO;

-Professeur Sékou F. TRAORE;

-Professeur Seydou DOUMBIA;

-Docteur Guimogo DOLO;

-Docteur Djibril SANGARE;

-Docteur Mahamadou DIAKITE;

-Docteur Mamadou B. COULIBALY;

-Docteur Ibrahima BABER ;

-Docteur Nafomon SOGOBA;

- Docteur Adama Dao

-Docteur Thomas NUTMAN;

-Docteur Amy KLION ;

-Docteur Simon METENOU

Je vous remercie très profondément d'avoir forcé mon admiration en m'orientant vers le monde de la recherche.

A M. Souleymane KAREMBE, Dr. Adama DAO, M. Adama SACKO, M. Abdramane FOFANA, M. Alpha Seydou YARO, M. Aboubacar COULIBALY, M. Moussa DIALLO, M. Ibrahim M. SISSOKO, M. Cheick Oumar COULIBALY, Mme Oumou NIARE, Dr Mahamadou B. TOURE, Dr Adamou Alpha, Dr Sibiri SAMAKE, Dr Saidou BALAM, Dr Mohamed Moumine TRAORE, Dr Madjou SACKO, Dr Ibrahima DIAKITE, Dr Yaya KASSOGUE, Dr Mahamoudou MAIGA, Dr Ibrahima DIALLO, Dr Aissata DOLO, Dr Soibou DOUMBIA, Dr Seidina DIAKITE, Dr Karim TRAORE, trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude pour votre franche collaboration et vos conseils sincères.

A tout le personnel de l'Unité de Recherche et de Formation sur les Filarioses

Dr Yaya Ibrahim COULIBALY, Dr Housseini DOLO, Dr Siaka KONATE, Dr Siaka Yamoussa COULIBALY, Dr Salif Seriba DOUMBIA, Dr Batenin SACKO, M. Abdallah A. DIALLO, M. Lamine SOUMAORO, M. Michel E. COULIBALY, M. Baba DIARRA, Dr Moussa Brema SANGARE, Dr Ilo DICKO, Mlle Rosine KWISU, M. Zana Lamissa SANOGO, M. Sory Ibrahima KEITA; je vous dis merci de tout cœur. Que Dieu le Tout Puissant renforce nos liens de collégialité.

Aux informaticiens du laboratoire

M. Sidy SOUMARE, M. Mady DIARRA, M. Amadou DIALLO et Mme SOUMARE Salimata TRAORE; merci pour votre constante disponibilité.

Aux chauffeurs, manœuvres, gardiens et surveillants du DEAP/MRTC; merci pour votre courtoisie.

A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et de l'université; je vous remercie pour tous les efforts consentis.

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réussite de mes études; trouvez en ce travail le fruit de vos efforts.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du Jury

Professeur Sékou Fantamady TRAORE

PhD en entomologie médicale

Co-directeur du MRTC

Responsable du cours de biologie cellulaire à la FMPOS

C'est un grand honneur que vous nous faites de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Votre modestie, votre rigueur scientifique, votre amour pour le travail bien fait, font de vous un maître exemplaire et apprécié de tous.

Veillez croire cher maître, en l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge

Docteur SOUMARE Massitan DEMBELE

Médecin Epidémiologiste Coordinatrice du Programme National d'Elimination de la Filariose Lymphatique

Nous sommes honorés de vous compter dans ce jury et de pouvoir bénéficier de votre apport pour l'amélioration de ce travail. Vos qualités humaines, votre détermination nous ont fortement marqué.

Veillez accepter cher maître, nos sentiments les plus respectueux.

A notre Maître et Co-directeur de thèse

Docteur Yaya Ibrahim COULIBALY

Docteur en Médecine Générale

Master en Epidémiologie et Santé Internationale, Chef de l'Unité de Recherche et de Formation sur les Filarioses au MRTC.

Ce modeste travail est la concrétisation de la confiance que vous nous avez placée, en nous acceptant dans votre service. Vous avez forcé notre admiration en nous orientant vers le monde de la recherche. Cher maître nous vous serions toujours reconnaissant pour tous les services rendus avant et pendant cette thèse. C'est l'occasion solennelle de vous dire infiniment merci et croyez à toute notre reconnaissance.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Seydou DOUMBIA

PhD en épidémiologie

Maître de conférences en épidémiologie à la FMPOS

Directeur Adjoint de la section entomologie du MRTC

Chef de l'Unité Leishmaniose du MRTC

Cher maître, vos qualités professionnelles, sociales et pédagogiques font de vous un maître apprécié de tous. Nous avons été séduits par votre simplicité, votre amour pour le travail bien fait et, votre souci constant de la formation de futurs cadres. Cher maître, soyez assuré de notre estime et de notre profond respect.

SIGLES ET ABBREVIATIONS

ADN: Acide Désoxyribonucléique

B. malayi: *Brugia malayi*

B. timori: *Brugia timori*

CHU: Centre hospitalier universitaire

CNAM: Centre National d'Appui a la lutte contre la Maladie

PCR conventionnelle: Réaction de polymérisation en chaine conventionnelle

DEC: Diéthylcarbamazine

DEAP: Département d'Epidémiologie des affections Parasitaires

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

FMPOS: Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie

FL: Filariose Lymphatique

GE: Goutte épaisse

GAEFL: Global Alliance for Elimination of Lymphatic Filariasis

ICT: *Immunochromatographic Card Test* (test rapide de detection de l'antigene filarien circulant)

mg: milligramme

MRTC: Malaria Research and Training Center

mf: microfilaire

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PRODESS: Programme de développement socio-sanitaire au Mali

PNEFL: Programme National d'Elimination de la Filariose Lymphatique

PCR: Polymerase Chain Reaction

Real time PCR: Real time Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaine en temps réel)

Taq pol: taq polymerase

W. bancrofti: *Wuchereria bancrofti*

µg: microgramme

Sommaire

1- Introduction.....	16
2- Objectifs	18
2-1- Objectif général	18
2-2- Objectifs spécifiques.....	18
3- Généralités	19
3-1- Définition.....	19
3-2- Rappels épidémiologiques.....	19
3-3- Rappels parasitologiques.....	19
3-3-a- Description du parasite	19
3-3-b- Cycle biologique du parasite	20
3-3-c- Identification de <i>Wuchereria bancrofti</i>	23
3-3-d- Interaction parasite vecteur	24
3-4- Rappels entomologiques sur la filariose lymphatique.....	24
3-5- Physiopathologie de la filariose lymphatique	25
3-6- Les différentes formes de filariose.....	27
3-7- Manifestations cliniques de la filariose lymphatique	27
3-7-1- La forme asymptomatique	27
3-7-2- Les formes symptomatiques.....	28
3-7-2-a- Manifestations précoces (aigues).....	28
3-7-2-b- Manifestations tardives (chroniques).....	29
3-8- Diagnostic.....	34
3-8-1- Diagnostic biologique	34
3-8-2- Diagnostic immunologique.....	37
3-8-3- Diagnostic par biologie moléculaire.....	37
3-8-4- Imagerie médicale	37
3-9- Traitement.....	37
3-9-1- But du traitement.....	37
3-9-2- Moyens du traitement.....	38
3-9-3- Traitement communautaire	39
3-9-4- Traitement de cas individuel	39

3-9-5- Le traitement des signes cliniques chroniques	39
3-9-5-1- Hydrocèle:	39
3-9-5-2- Lymphangite:.....	39
3-9-5-3- Lymphoedème et éléphantiasis: leurs traitement repose sur	40
3-9-6- Traitement prophylactique.....	40
4- Méthodologie	41
4-1- Type et période d'étude	41
4-2- Sites d'étude.....	41
4-3- Choix des villages.....	42
4-4-Plan de travail.....	44
4-4-1- La technique de capture (Spray catch ou capture de jour)	44
4-4-2- Echantillonnage.....	44
4-4-3- Recherche de l'ADN de Wuchereria bancrofti au sein des lots moustiques au laboratoire	45
4-5- Analyse des données	48
4-6- Considérations éthiques	48
4-7- Quelques définitions opérationnelles	48
5- Résultats	50
6- Commentaires et discussion	65
7- Conclusion	68
8- Difficultés/faiblesses.....	69
9- Recommandations.....	69
10-Références bibliographiques.....	71

1- Introduction

La filariose lymphatique (FL), communément appelée éléphantiasis est une maladie parasitaire invalidante aux conséquences esthétiques et fonctionnelles parfois graves. Connue depuis des siècles. Elle est due à l'infection de l'organisme humain par des nématodes, principalement les espèces *Wuchereria bancrofti* (*W. bancrofti*), *Brugia malayi* (*B. malayi*) et plus rarement *Brugia timori* (*B. timori*) [2]. *W. bancrofti* est transmis par les moustiques du genre *Culex* (en Inde), du genre *Aedes* (en Polynésie française) et du genre *Anopheles* (en Afrique). La transmission de *B. malayi* et *B. timori* est assurée par les moustiques du genre *Mansonia* (au Sud-est asiatique et en Indonésie) [1].

Selon l'OMS dans le monde la filariose lymphatique menace plus d'un milliard de personnes dans à peu près 81 pays. Environ 120 millions (120.000.000) de cas ont été observés à l'échelle mondiale. Sur ces 120 millions de cas, plus de 40 millions sont gravement handicapés (25 millions par l'hydrocèle et 15 millions par l'éléphantiasis). Un tiers des personnes infectées vivent en Inde, un tiers en Afrique et le reste principalement en Asie du sud, dans le Pacifique et dans les Amériques [4].

Depuis 1912, des études ont montré que la maladie sévissait dans le pays:

Thiroux (1912) dans les régions de Tombouctou, Koulikoro, Ségou, Mopti, Kayes, Bamako, Sikasso avec des taux de prévalence allant de 16 à 26% [46]

Léger, Subra, Rougemont, Brengues, le Centre Muraz et la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Bamako (de 1912 à 1978) dans les régions de Bamako, Mopti, Ségou, Sikasso et Koulikoro: avec des taux de prévalence de 15 à 44 % [46].

Dans les hôpitaux du point G et Gabriel Touré de Bamako la chirurgie de l'hydrocèle représente respectivement 6% et 13,1% des interventions [46].

En 2002, *Coulibaly* étudia la maladie à Banambani dans la même zone que *Touré* (1979) et trouvait que la maladie existait toujours mais avec une diminution de l'intensité et du niveau de transmission.

L'Alliance Mondiale pour l'Élimination de la FL a été motivée par les découvertes suivantes:

- que le cycle de transmission de la FL peut être interrompu en 5 ans au plus par un traitement annuel des communautés à risque avec 2 médicaments sûrs et efficaces, fournis gratuitement par des partenaires de l'alliance,

- que les incapacités et souffrances de ceux déjà touchés par la FL peuvent être grandement atténuées par des mesures d'hygiène simples et dans certains cas, la chirurgie [45].

Le rapport de validation du Programme National d'Élimination de la filariose lymphatique au Mali en 2004, fait état d'une prévalence de 1 à 18,6% pour une prévalence moyenne de **7,07%** avec les cartes ICT (Immunochromatographic Card Test).

Au regard de ces résultats, la lutte contre la filariose lymphatique est devenue l'une des priorités du Ministère de la Santé[4]

Le PNEFL a pour objectif l'élimination de la filariose lymphatique en tant que problème de santé publique d'ici 2020 comme prévu dans toutes les zones endémiques de la région ouest africaine de l'OMS [4]. Il a développé un plan stratégique national d'élimination de FL et des MTN sur 15 ans et travaille en étroite collaboration avec l'Unité de Recherche et de Formation sur les filarioses de la MRTC (*Malaria Research and Training Center*).

Les sites sentinelles sont des zones de surveillance. Les systèmes de surveillance sentinelle mettent à contribution un nombre limité de sites (collectivités) choisis de manière à ce que les données recueillies puissent être appliquées à l'ensemble de la population.

L'Alliance Mondiale d'Élimination de la Filariose Lymphatique s'appuie fortement sur la détection de l'antigène filarien circulant comme une méthode d'identification et de cartographie des zones à être cibler pour le traitement de masse (TDM) [7].

Pour répondre au souci de contrôler l'efficacité du TDM nous avons utilisé la PCR en temps réel comme outils de surveillance de la transmission dans les zones où le niveau d'infection au sein de la population vectrice est faible.

Notre étude s'est proposée d'évaluer le niveau de transmission de la FL dans les sites sentinelles avant et après 1 TDM en utilisant la détection de l'ADN de *Wuchereria bancrofti* au sein des lots moustiques par la PCR en temps réel comme outil de surveillance de la transmission d'une part puis de comparer la PCR en temps réel à la PCR conventionnelle dans la détection de l'ADN de *Wuchereria bancrofti* d'autre part.

2- Objectifs

2-1- Objectif général

Evaluer le niveau de transmission de la filariose lymphatique (FL) dans les sites sentinelles du PNEFL dans la région de Sikasso avant et après le 1^{er} TDM.

2-2- Objectifs spécifiques

- Déterminer les variations de la densité et de l'agressivité des vecteurs dans les sites sentinelles du PNEFL avant et après le 1^{er} TDM;
- Comparer les taux d'infection des moustiques avant et après le 1^{er} TDM dans les sites sentinelles du Programme National d'Elimination de la Filariose Lymphatique;
- Comparer la PCR en temps réel à la PCR conventionnelle par rapport à la détection de l'ADN de *Wuchereria bancrofti* au sein des lots de moustiques.

3- Généralités

3-1- Définition

La filariose lymphatique est l'ensemble des manifestations pathologiques déterminées par le parasitisme de l'organisme humain par des filaires du genre *Wuchereria bancrofti* ou filaire de Bancroft qui comporte une variété pacifica en Océanie, *Brugia malayi* (filaire de Malaisie), ou *Brugia timori* retrouvée dans les îles Célèbes et Timor[8].

3-2- Rappels épidémiologiques

La filariose lymphatique est très répandue dans les zones intertropicale et subtropicale. Elle provoque des réactions allergiques et surtout des lésions du système lymphatique dues aux filaires adultes (lymphangites, adénites, varices lymphatiques, chylolympuries, hydrocèles, éléphantiasis localisé souvent aux membres).

Selon le rythme d'apparition des microfilaires dans le sang, on distingue des formes apériodiques (*Mansonnella*) et périodiques diurne (*Loa loa*) ou nocturne (Bancroftose).

B. malayi est exclusivement asiatique. Il coexiste avec *W. bancrofti* dans certaines zones de l'Inde jusqu'à la ligne Wallace. *B. timori* n'existe que sous forme de petits foyers en Indonésie et en particulier dans les Iles de Célèbes et de Timor à l'origine de son nom (Rapport de l'OMS: Epidémiologie de la FL dans le monde. <[Http:www.pondicherry.nic.in/filfree/vcrc/web/parakdr.htm](http://www.pondicherry.nic.in/filfree/vcrc/web/parakdr.htm)>2004).

W. bancrofti est responsable de la FL dans environ 91% des cas, 9% sont dus à *B. malayi*, *B. timori* étant limité aux Iles Timor [8].

3-3- Rappels parasitologiques

3-3-a- Description du parasite

Wuchereria bancrofti est un nématode de la classe des *Secernentea*, sous-classe des *Spiruria*, ordre des *Spirurida*, superfamille des *Filarioidea*, famille des *Filariidea*[9]

En 1863 Demarquay observa pour la 1^{ère} fois les microfilaires de *W. bancrofti* à Paris dans le liquide d'hydrocèle. La filaire adulte a été observée pour la 1^{ère} fois en Australie par Cobbold en 1877. Les vers adultes de *W. bancrofti* sont localisés dans les vaisseaux lymphatiques du scrotum et du cordon spermatique, réseaux abdominaux profonds, relais ganglionnaires de drainage lymphatique des membres (membres

inférieurs) [10]. Les parasites adultes ou macrofilaires sont des vers ronds, blancs filiformes. Le mâle mesure 40mm de long sur 0,1mm de diamètre. L'extrémité postérieure recourbée est munie de deux spicules rétractiles d'inégale longueur. La femelle, plus grosse et plus longue mesure 65 à 100mm de long sur 0,25 mm de diamètre. La vulve de la femelle est située vers la partie antérieure et l'utérus contient dans sa partie supérieure des œufs ovoïdes qui mesurent 40 sur 25 microns; l'extrémité postérieure du mâle est tirebouchonnée. Les adultes de *Wuchereria bancrofti* et *Brugia malayi* sont morphologiquement très voisins [4, 8]. Les microfilaires sanguicoles présentent des caractères spécifiques faciles à mettre en évidence sur une Goutte épaisse colorée au giemsa.

Chez les moustiques vecteurs, les microfilaires se transforment en formes de saucisses (stade1) puis en formes intermédiaires (stade2) avant de donner naissance à des formes infectantes pour l'homme (stade3)

3-3-b- Cycle biologique du parasite

Bregues et al. en 1968 ont trouvé que la densité maximale d'*Anopheles gambiae s.l* s'observe en fin de saison des pluies (aout-septembre) et que le niveau minimal se situe au milieu de la saison sèche. La densité est élevée pendant toute la saison des pluies (de juin à septembre)

Cependant *Anopheles funestus*, présente une densité plus importante dans la seconde moitié de la saison des pluies et en début de la saison sèche [Hannay;1960] dans la région de Kaduna, Nigeria.

Chez l'homme, les femelles émettent des embryons ou microfilaires qui circulent en permanence dans la lymphe et périodiquement dans le sang. La périodicité de la microfilarémie est le plus souvent nocturne. Mais cette périodicité varie selon les espèces et les variétés[11].

Chez les moustiques vecteurs de la FL, seules les femelles sont hématophages et l'horaire de leur repas de sang coïncide avec la présence des microfilaires dans le sang. En prenant le sang d'un sujet infecté, les moustiques absorbent les microfilaires qui subissent un cycle évolutif complexe chez le moustique et deviennent infectantes dans sa trompe au stade L3. Ainsi les parasites adultes, mâles et femelles vivent enroulés en peloton dans le système lymphatique de l'homme qui constitue le réservoir naturel (pour *B. malayi* il existe un réservoir animal). Leur longévité est importante, 15 ans (voir plus). Elles mesurent 250 à 300 µm de long sur 8 µm de diamètre et sont entourées d'une gaine. Le parasite évolue morphologiquement chez l'invertébré et se transforme en 12 à 14 jours en une forme infectante qui est transmise à un nouvel hôte

lors d'un repas de sang ultérieur [12]. Les larves gagnent le système lymphatique et atteignent le stade adulte après deux mues. Seuls s'infectent les moustiques qui piquent lorsque les microfilaires sont dans le sang périphérique. *Culex quinquefasciatus* et diverses espèces d'*Anopheles*, tous nocturnes, transmettent la forme nocturne de *W. bancrofti*. Les *Aedes* piquant de jour comme de nuit, sont les vecteurs de la forme aperiodique. Les *Anopheles* et les *Mansonia* transmettent *B. malayi*; seuls les premiers seraient impliqués dans le cycle de *B. timori* [11].

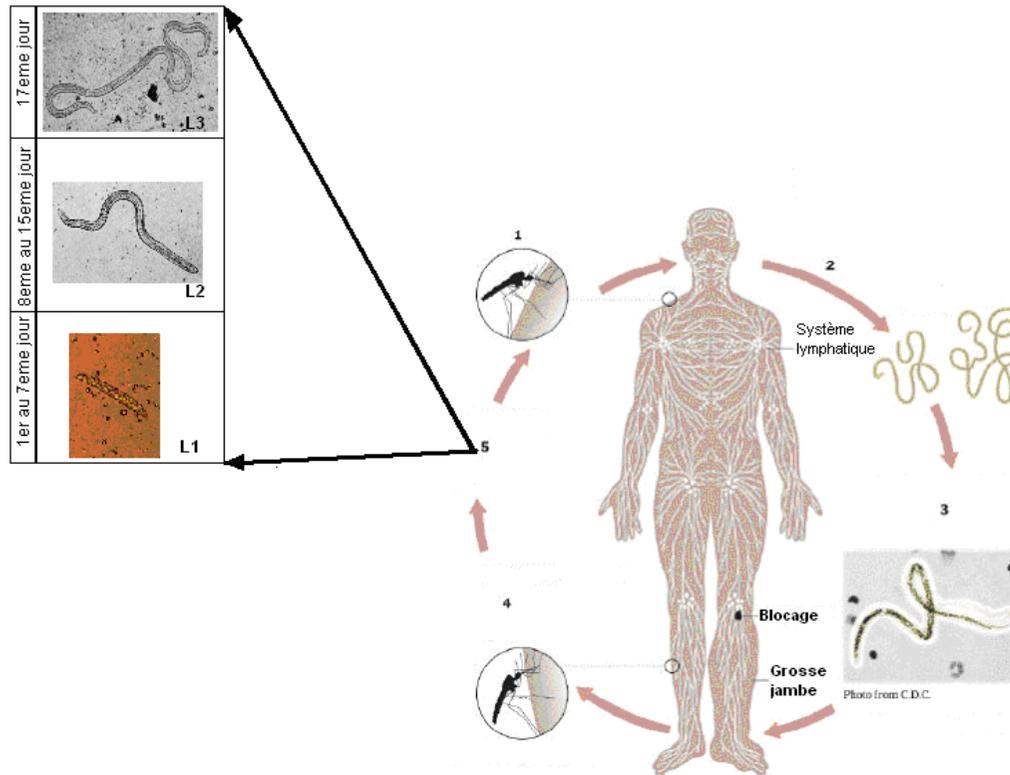


Figure 1: Cycle biologique de *W. bancrofti*; Image modifiée, Source: Carter Center (<http://www.histopathology-india.net/Fila.htm>)

1: Le moustique infecté dépose des larves de stade 3 sur la peau au cours d'un repas de sang. Ces larves pénètrent dans l'organisme par le point de piqûre

2: Les larves migrent dans le système lymphatique, où elles croissent, se regroupent et forment des nids.

3: Les femelles produisent des microfilaries, qui envahissent la circulation sanguine suivant une certaine périodicité (nocturne pour *W. bancrofti*)

4: Le moustique au cours de son repas de sang sur une personne infectée, ingère les microfilaries avec le sang.

5: Les microfilaries ingérées subissent des mues pour devenir des larves infectantes (L3).

3-3-c- Identification de *Wuchereria bancrofti*

L'identification se fait en fonction des éléments suivants :

Les vers adultes ou macrofilaires sont blancs et filiformes.

Ils mesurent 5 à 10 cm de long et vivent dans les vaisseaux et les ganglions lymphatiques

Les microfilaries sont entourées d'une gaine et circulent en permanence dans la lymphe et périodiquement (nocturne) dans le sang.

- La taille qui varie de 250 μm à 300 μm de long sur 8 μm de diamètre.
- l'espace céphalique est court
- les noyaux sont petits et séparés.
- l'extrémité postérieure est effilée avec des noyaux subterminaux.



Figure 2: Microfilarie de *Wuchereria bancrofti* dans une goutte épaisse (Source: Parasitologie-Mycologie. CHU Nice Rennes. M. Gari-Toussaint).

URL: http://umvf.univ-nantes.fr/parasitologie/enseignement/filarioses/site/html/1_12_2.html

3-3-d- Interaction parasite vecteur

Pour le parasite: les microfilaires agissent sur la longévité et la capacité de vol des moustiques. Cette hypothèse est soutenue par la taille importante et par le fait que les parasites résident dans les muscles alaires du thorax ainsi que la détérioration de l'anatomie stomacale du vecteur [13]

Pour les vecteurs: toutes les microfilaires ingérées n'évoluent pas jusqu'au stade 3. Ainsi certaines microfilaires sont détruites au niveau du pharynx du moustique, d'autres sont incapables de franchir la paroi stomacale ou dégénèrent à l'état de microfilaires dans l'hémocèle de l'insecte. D'autres, enfin dégénèrent au cours de leur évolution dans les muscles thoraciques. Ce qui explique que même chez certains vecteurs dits excellents, peu de filaires évoluent jusqu'au stade larvaire 3 qui est infectant [13]

3-4- Rappels entomologiques sur la filariose lymphatique

3-4-a- Rappels sur les vecteurs

Le moustique: Les vecteurs sont du genre, *Anopheles*, *Culex*, *Aedes* et *Mansonia*. Ce sont des insectes diptères appartenant à la famille des *Culicidae*. La forme périodique nocturne de *W. bancrofti*, est essentiellement transmise par les *Anopheles* mais aussi par les *culex* (notamment en Polynésie française), les *Aedes* et exceptionnellement par *Mansonia uniformis*. La forme sub-périodique diurne de la Polynésie et du Pacifique Oriental (*W. bancrofti variété pacifica*) ainsi que la forme sub-périodique nocturne de Thaïlande sont transmises par diverses espèces d'*Aedes* [8, 11, 14]. Les formes périodiques et sub-périodiques de *Brugia malayi* sont transmises par des moustiques du genre *Mansonia*, *Anopheles* et exceptionnellement par *Aedes togoi* et *Coquillettidia ochracea* [8].

Au Mali, la transmission de *W. bancrofti* est assurée par les moustiques du genre *Anopheles* (*Anopheles gambiae s.l* et *Anopheles funestus*) [2, 5]. La femelle se nourrit de sang et de sucs végétaux, le mâle exclusivement de sucs végétaux. Le repas de sang permet la maturation des œufs et la ponte à la surface d'une collection d'eau, le plus souvent ensoleillée, propre et peu ou pas coulante. Les œufs d'*Anopheles* possèdent des flotteurs latéraux. Les larves se reconnaissent par leur position horizontale, maintenue juste sur la surface de l'eau par des soies palmées dorsales. Après 4 stades larvaires successifs, la nymphe toujours aquatique, après l'émergence libère un moustique adulte. Les adultes ont des ailes recouvertes d'écailles, définissant le long du bord antérieur une alternance de tâches claires et sombres. Ils maintiennent leurs trompes dans le prolongement du corps au repos et lors de la piqûre ils ont une

position formant un angle aigu par rapport au support. Après la piquûre, la femelle se met au repos pendant la maturation des œufs (cycle gonotrophique) soit à l'intérieur des maisons (endophilie) soit à l'extérieur (exophilie).



Figure 3: *Anopheles gambiae* (photo by Anthony Cornel).

<http://www.vetmed.ucdavis.edu/ucmrp/publications/anophelesgambiaephotopage.html>

3-5- Physiopathologie de la filariose lymphatique

Le système lymphatique est constitué de vaisseaux lymphatiques (également connus sous le nom de lymphatiques), de ganglions lymphatiques et d'autres structures semblables aux ganglions lymphatiques, répartis dans tout le corps. Une des fonctions les plus importantes est de détruire les organismes microscopiques «intrus», telles que les bactéries, qui peuvent causer un certain nombre de maladies.

Les vaisseaux lymphatiques sont organisés en un réseau de tubes qui drainent des liquides et d'autres substances contenus dans les tissus du corps pour les ramener au cœur. Ce liquide s'appelle la lymphe. Des milliers de minuscules vaisseaux lymphatiques fusionnent ensemble pour former de plus gros vaisseaux. A l'intérieur des vaisseaux, la lymphe ne peut se déplacer que dans une seule direction, vers le cœur. La principale fonction des vaisseaux lymphatiques est de débarrasser les tissus du corps des déchets organiques qu'ils contiennent. Ce processus draine également l'excès d'eau qu'il y a dans les tissus et envoie divers organismes infectieux telles que les bactéries vers les ganglions lymphatiques où ils seront détruits.

L'exercice physique aide à drainer l'excès d'eau contenue dans les tissus. Lorsque les muscles se contractent autour d'un vaisseau lymphatique, ils poussent le liquide de l'intérieur du vaisseau vers le cœur.

La diminution de la capacité des vaisseaux lymphatiques à drainer ces substances contenues dans les tissus et à les transporter vers le cœur est connue sous le nom d'insuffisance lymphatique. Tout ce qui endommage les vaisseaux lymphatiques peut provoquer une insuffisance lymphatique. Deux exemples de ce phénomène sont les déficiences congénitales (qui ont pour conséquence la diminution du nombre de vaisseaux lymphatiques sains) et les vers adultes au cours de la filariose lymphatique. Toute insuffisance des vaisseaux lymphatiques mène à un dysfonctionnement du système lymphatique qui seul ou en combinaison avec d'autres facteurs, peut causer un lymphœdème.

De nombreux petits vaisseaux lymphatiques sont situés dans la peau, y compris la peau des pieds, du pénis et du scrotum. On peut trouver des bactéries en grand nombre à la surface de la peau, particulièrement à ces endroits là. De temps à autre elles atteignent le système lymphatique mais sont habituellement détruites sans causer de signe d'infection. Les ganglions lymphatiques sont situés à certains points le long des vaisseaux lymphatiques. Les ganglions lymphatiques filtrent les bactéries du liquide lymphatique. Lorsque les ganglions lymphatiques bloquent un grand nombre de bactéries, ils grossissent et deviennent tendus au toucher. Ils sont comme des boules sous la peau.

Lorsque des filaires adultes se logent dans les vaisseaux lymphatiques, ils dilatent ces vaisseaux et les endommagent. Ce processus est connu sous le nom de dilatation. Il perturbe le fonctionnement des vaisseaux lymphatiques et peut changer le taux d'écoulement de la lymphe, conduisant à l'insuffisance lymphatique.

Le siège des dommages causés aux vaisseaux lymphatiques influence le type de maladie que le patient va développer.

Lorsque les vaisseaux lymphatiques endommagés sont ceux qui drainent la peau, le patient court le risque de développer un lymphœdème. S'il s'agit des tissus plus profonds, tels que les testicules ou l'appareil urinaire, d'autres manifestations cliniques peuvent se produire telles que l'hydrocèle et la chylurie [15].

Actuellement, on tenterait d'expliquer la symptomatologie de la FL par la présence de bactéries endosymbiotiques que sont les *Wolbachia*. Ces bactéries vivent en symbiose chez la plus part des filaires pathogènes pour l'homme. Chez *W. b*, *Wolbachia* interfère dans le développement, la vitalité, la fertilité et semble t-il, le pouvoir pathogène. C'est ainsi qu'après suppressions des *Wolbachia* par un traitement antibiotique (tétracycline ou tétracycline rifampicine), la production des microfilaires diminue ou est suspendue [16, 17]. D'autres auteurs ont pu également démontrer la participation de *Wolbachia* dans les manifestations chroniques de la FL par le pic de

WSP (*Wolbachia Surface Protein*). Ce pic de WSP est observé au début du lymphœdème et de l'hydrocèle chez les sujets atteints de FL. Ceci ne contredit pas l'aggravation des signes de chronicité par les surinfections bactériennes et le mécanisme des manifestations cliniques [18]

Dans la filariose lymphatique les manifestations cliniques sont diverses: les formes asymptomatiques, les formes symptomatiques aiguës et chroniques, et les formes avec manifestations extra lymphatique.

3-6- Les différentes formes de filariose

On peut citer: l'onchocercose à *Onchocerca volvulus*, la Loase à *Loa-loa*, la dracunculose à *Dracunculus medinensis*, la filariose lymphatique à *Wuchereria bancrofti*, à *Brugia malayi* ou *Brugia timori* [19].

Les filarioses à *Mansonella perstans* et à *Mansonella ozzardi* ont une pathogénicité encore discutée [20].

3-7- Manifestations cliniques de la filariose lymphatique

3-7-1- La forme asymptomatique

Le développement de la maladie reste quelque peu énigmatique pour les scientifiques. Bien que l'infection soit acquise en général au début de l'enfance, il arrive qu'elle mette des années pour se manifester [21]. De ce fait, de nombreuses personnes ne présentent jamais les manifestations extérieures de leur infection. Même en absence de symptômes cliniques, les études ont révélé que ces victimes, apparemment en bonne santé, souffrent d'une pathologie lymphatique cachée ainsi que de lésions rénales infra cliniques. La forme asymptomatique est fréquente parmi les sujets autochtones et ces personnes représentent le réservoir de parasites. On note la présence de microfilaires dans leur sang périphérique et des vers adultes dans leur système lymphatique [22].

3-7-2- Les formes symptomatiques

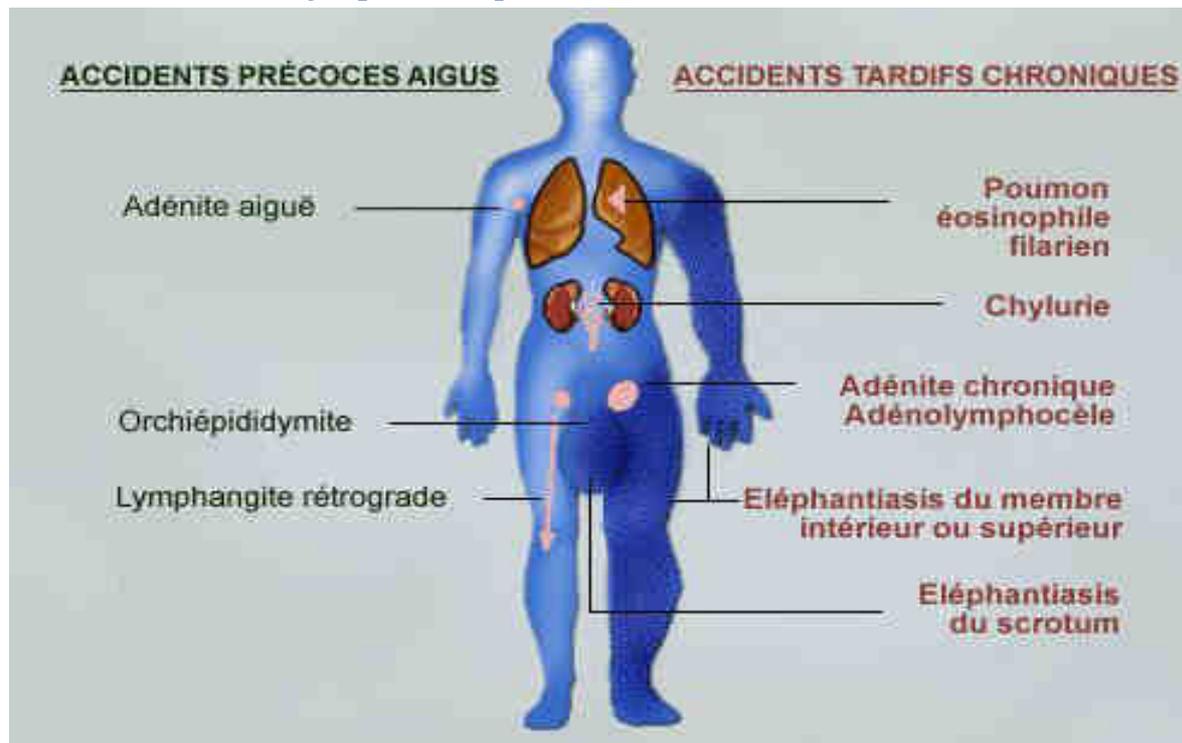


Figure 4: Manifestations cliniques chroniques de la FL. (source: université de Rouen)
 URL: <http://sites-test.uclouvain.be/stages-hygtrop//gentilini/3310%20Filarioses/jgent33.html>

3-7-2-a- Manifestations précoces (aigues)

Elles peuvent survenir moins de trois mois après le début de séjour en zone d'endémie. Les manifestations initiales sont parfois d'apparition progressive: sensation de tiraillement, de pesanteur nocturne au niveau de la cuisse, du cordon spermatique et du testicule; œdèmes localisés, fugaces souvent sensibles et légèrement érythémateux des membres et des organes génitaux. Ces accès, d'abord minimes et espacés ont tendance à s'accroître et à se télescoper. Il n'est pas rare de noter des phénomènes à types de prurit, de poussée d'urticaire ou d'arthralgie. Cependant, il est plus classique d'observer au début de la lymphopathie filarienne des accidents bruyants.

- Accidents génitaux aigus: La lymphangite du scrotum est isolée ou associée à une funiculite, l'orchite d'installation brutale laissant souvent après elle une hydrocèle chyleuse.

Des signes généraux sévères: fièvre, asthénie, parfois délire accompagnent ces accidents qui disparaissent rapidement mais récidivent fréquemment.

- Lymphangites aiguës des membres: Elles débutent 3 à 20 mois après l'infection. Elles sont souvent précédées de symptômes généraux avec une fièvre élevée. Comme les lymphangites banales, elles déterminent l'apparition d'un œdème inflammatoire

douloureux au niveau d'un membre. La peau est chaude, luisante avec une adénite régionale satellite. Elles s'individualisent par progression centrifuge, de la racine vers l'extrémité du membre à l'opposé des lymphangites bactériennes. Leur caractère fugace rétrocedant en quelques jours mais récidivant est assez particulier. Il n'existe aucun signe veineux ni infectieux [8]

- Lymphangites aiguës profondes

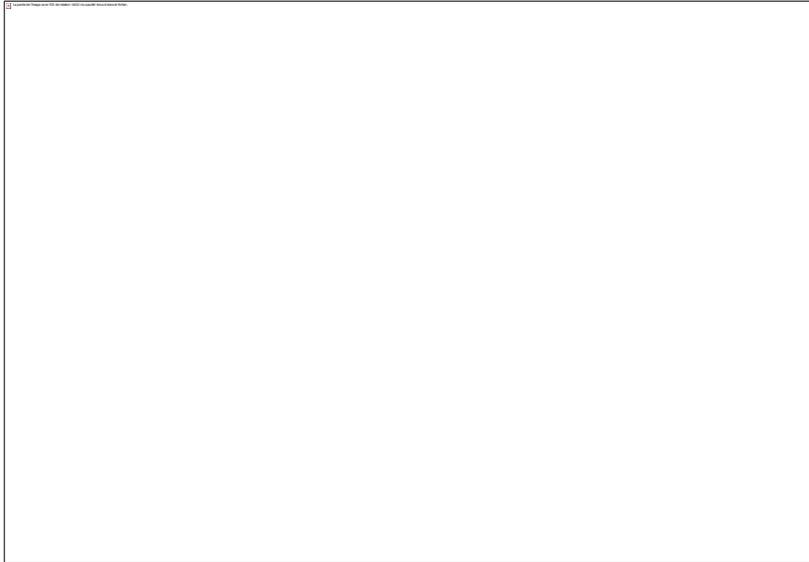


Figure 5: L'inflammation à provoquer un gonflement et une douleur chez une habitante du site d'étude. Source: DNS/PNEFL février 2012

Comme les lymphangites périphériques, les troncs profonds peuvent être atteints: les symptômes comme la fièvre, douleur thoracique ou abdominale chez un filarien traduisent souvent une lymphangite aiguë profonde.

- Adénites aiguës

Elles surviennent isolément ou succèdent aux lymphangites et siègent plus souvent au niveau des aires inguinales qu'axillaires. Ces adénites sont parfois associées à des manifestations respiratoires.

3-7-2-b- Manifestations tardives (chroniques)

Elles n'apparaissent généralement pas avant l'âge de 15 ans et seule une partie de la communauté parasitée est concernée. Au stade chronique de la maladie, les microfilaires sont généralement absentes du sang. Ceci est du soit à une charge parasitaire trop faible, à la mort ou à la stabilisation des vers adultes femelles.

L'hydrocèle, le lymphœdème, l'éléphantiasis, la chylurie et le poumon éosinophile tropical sont les principales manifestations cliniques chroniques pathologiques de la

filariose de Bancroft. L'incidence et la gravité de ces manifestations cliniques tendent à augmenter avec l'âge.

3-7-2-b-1- Manifestations génitales

- L'hydrocèle



Figure 6: Hydrocèle chez un habitant du site d'étude: source MRTC/filariose mars 2006

Extrêmement fréquente dans la filariose de Bancroft, elle atteint environ 40 à 50 % des hommes infectés dans plusieurs zones endémiques. Il est à noter que toutes les hydrocèles d'une zone endémique ne sont pas d'origine filarienne [23]. Elle se manifeste par une tuméfaction de la membrane péritonéale entourant chacun des testicules. Généralement, un liquide limpide jaune pâle s'accumule dans cette cavité (la vaginale) par suite du blocage des vaisseaux lymphatiques assurant le drainage vers les zones rétro péritonéaux et sous diaphragmatiques. Dans de rares cas, le liquide a une apparence laiteuse causée par la présence de lymphes.

L'hydrocèle est classée par grade dans la filariose lymphatique:

- Grade 1 : plus petit que la balle de tennis;
- Grade 2 : situé entre le grade 1 et le grade 3;
- Grade 3 : aussi gros que la tête du patient [24]

Le diagnostic est posé à la palpation qui retrouve une matité, et une trans-illumination en appliquant une source lumineuse contre la bourse.

- La Chylurie

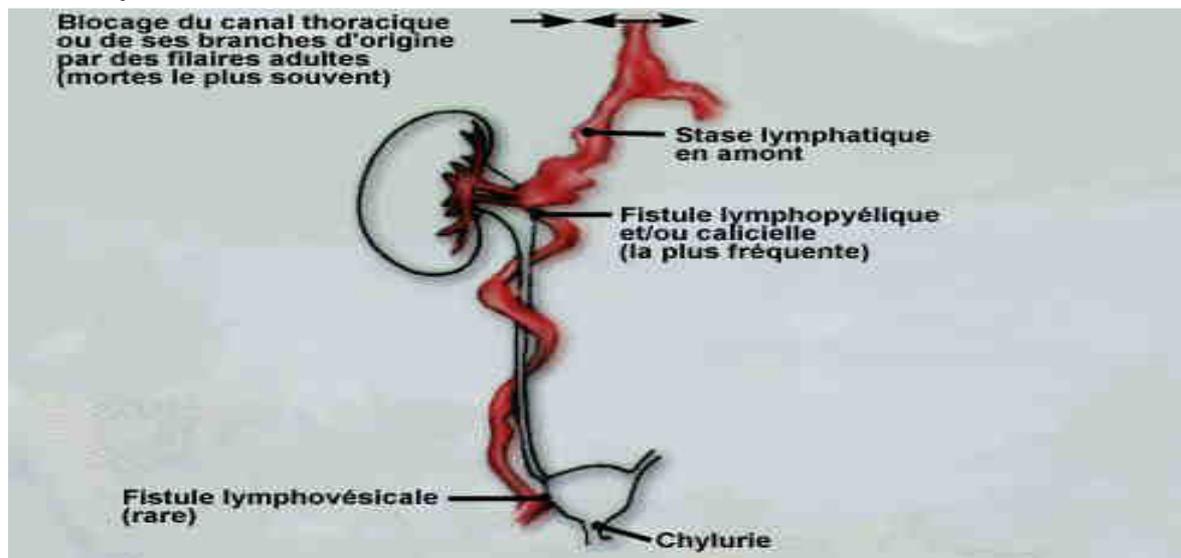


Figure 7: Mécanisme de la chylurie (Source: Médecine tropicale- M. Gentilini et B. Dufflo AUPELF 2000 Les helminthiases: Les filarioses)

C'est la présence de chyle dans l'urine. Elle s'accompagne parfois d'une hématurie massive. La physiopathologie est essentiellement liée à l'obstruction des ganglions lymphatiques rétro péritonéaux en aval de la citerne de Pecquet, provoquant un reflux de la lymphe intestinale directement dans les vaisseaux lymphatiques. Ceux-ci peuvent alors se rompre et laissant ainsi passer le chyle dans les voies urinaires. Dans ce cas, l'urine présente une apparence laiteuse et contient des quantités considérables de lymphe provenant du tractus gastro-intestinal. L'infection est généralement indolore, mais l'excrétion de quantités importantes de lipides, de protéines, et peut être de vitamines liposolubles provoque une perte de poids et peut même conduire à l'inanition. Dans certains cas on observe une microfilarémie associée.

- Orchi-épididymites chroniques

L'atteinte du canal déférent est plus rare que celle de l'épididyme. La stérilité est possible en cas d'atteinte bilatérale.

3-7-2-b-2- Evolution et classification du lymphœdème

Il s'agit d'un œdème touchant le plus souvent les membres, mais aussi la face, le tronc et les organes génitaux lié à une mauvaise circulation de la lymphe. C'est une pathologie invalidante et chronique qui accompagne le patient toute sa vie.

Le lymphœdème peut évoluer plus ou moins rapidement vers les quatre phases suivantes.

- 1) Une phase de latence: elle se traduit par une gêne plutôt esthétique avec poussées de gonflement des doigts ou des pieds rapidement résolutive. L'œdème disparaît également à la surélévation du membre.
- 2) Une phase d'œdème intermittente: les poussées sont plus prolongées, déclenchées par l'effort physique, l'exposition solaire, un petit traumatisme (piqûre, brûlure) occasionnant une lymphangite qui est source d'aggravation. La peau reste normale et l'œdème ne disparaît pas à la surélévation du membre.
- 3) Stade de lymphœdème typique: l'œdème ne régresse pas totalement la nuit, ni en période hivernale. Il reste encore souple et prend le godet (creux laissé par la pression du doigt sur la peau). Il apparaît aussi un épaissement de la peau sur la face dorsale du 2^{ème} orteil. On recherche le signe de Stemmer-kaposi, c'est-à-dire l'impossibilité de pincer la peau. Ce signe est pathognomonique de l'affection, mais inconstant.
- 4) La phase d'éléphantiasis avec induration du membre, sillons très profonds, présence de verrues lymphatiques et de complications dermatologiques fréquentes. L'œdème est permanent et non réversible [24, 26].

Il s'agit d'une hypertrophie scléro-fibreuse du derme et de l'hypoderme qui survient progressivement sur un territoire où se succèdent des crises récurrentes de lymphangite aiguë. L'éléphantiasis constitué peut aboutir à des infirmités monstrueuses.



Figure 8: Eléphantiasis de la jambe droite chez un sujet; Source: MRTC/Filariose, 2006

Ces manifestations cliniques chroniques sont les plus spectaculaires de cette filariose de Bancroft et leurs images ont longtemps résumé sa pathologie. L'éléphantiasis peut siéger au niveau de plusieurs parties du corps par ordre de fréquence: membres inférieurs, scrotum, membres supérieurs, sein et vulve.

Dans les régions où *W. bancrofti* est endémique, l'œdème atteint souvent la cuisse aussi bien que les jambes, alors que dans l'infection à *Brugia malayi*, il se cantonne généralement en dessous du genou.

L'origine filarienne de l'éléphantiasis même en zone d'endémie n'est pas constante, il existe: l'éléphantiasis primitif et l'éléphantiasis secondaire.

3-7-2-b-3- Les manifestations cliniques extra lymphatiques

Ces manifestations ne sont pas spécifiques à la filariose et l'on ne peut pas souvent affirmer que ce sont les vers adultes ou les microfilaires qui en sont responsables [26]. On peut citer le poumon éosinophile tropical, les arthrites, les atteintes rénales, la fibrose endocardiaque, la tenosynovite, les thrombophlébites, les paralysies des nerfs périphériques et diverses dermatoses [27].

- Le Poumon Eosinophile Tropical (PET)

Le PET dans sa forme typique est accompagné de toux nocturne, de dyspnée et de fièvre. C'est un syndrome qui est rare dans la filariose lymphatique car moins de 1% de la population infectée le manifeste [28, 29]. Il serait dû à une réaction allergique aux microfilaires. Il est rencontré chez les sujets hébergeant les vers adultes et fertiles. Le diagnostic repose sur une hyper éosinophilie, l'échographie, l'antigène filarien circulant positif et la disparition des symptômes au traitement d'épreuve à la DEC [30].

- Les arthrites

On rencontre deux types d'arthrites les oligo-arthrites et les polyarthrites.

Les oligo-arthrites: il s'agit d'une inflammation des grosses articulations sûrement d'origine filarienne. A l'examen du liquide synovial, il n'y a ni microfilaires, ni vers adultes, ni micro-organismes. Cette réaction serait due à la proximité des filaires aux articulations. Le traitement à la DEC entraîne la disparition de la symptomatologie.

Les polyarthrites «ou pseudo rhumatisme filarien» à la différence des mono arthrites, l'examen synovial retrouve des microfilaires et le test à l'antigène filarien est positif [26].

- Les atteintes rénales

Depuis plusieurs années ont été décrites des glomérulonéphrites, des hématuries et des protéinuries chez certains sujets infectés par la filariose lymphatique, mais rarement une microfilarémie. Environ 45% des sujets microfilarémiques ont une atteinte rénale se manifestant par une hématurie (~35%) et/ou par une protéinurie (~20%). Le mécanisme de ces atteintes serait dû à la circulation des microfilaires au niveau des glomérules entraînant des dépôts de complexes immuns qui sont responsables de la pathologie rénale [26]

3-8- Diagnostic

Il n'y a pas longtemps, le diagnostic de la FL posait encore de grandes difficultés. Il fallait en effet rechercher au microscope les microfilaires dans le sang.

Dans la plus part des régions du monde, elles ont une périodicité nocturne qui ne les fait apparaître qu'en milieu de nuit (22h-02h). Le récent développement d'une épreuve sur carte (ICT) «très sensible, spécifique et simple» pour dépister les antigènes parasitaires circulant sans devoir recourir à des installations de laboratoire et en utilisant une simple goutte de sang obtenue par piqûre du doigt à n'importe quelle heure du jour a complètement transformé l'approche diagnostic. Avec ce nouvel outil il est désormais possible à la fois d'améliorer notre compréhension de l'endroit où l'infection survient et de surveiller plus facilement l'efficacité des traitements et des programmes de lutte [22].

3-8-1- Diagnostic biologique

3-8-1-1- Diagnostic parasitaire

Le diagnostic de la filariose de Bancroft portera sur la découverte, soit des filaires adultes ou macrofilaires, soit des microfilaires.

3-8-1-1-a- Mise en évidence des macrofilaires

Les macrofilaires ne sont trouvées qu'accidentellement lors de l'examen d'une pièce opératoire, soit au cours d'une biopsie ganglionnaire. Sur les préparations anatomopathologiques, on note des sécrétions de vers entourés d'un tissu réactionnel.

En aucun cas, il ne faut recommander de biopsies ganglionnaires lorsqu'on soupçonne une FL car les risques de lymphangite sont à redouter [8, 22]

3-8-1-1-b- Recherche de microfilaires dans le sang

La mise à évidence des microfilaires de *W. bancrofti* se fera essentiellement au niveau du sang. Les prélèvements doivent tenir compte de la périodicité nocturne des microfilaires et être pratiqués la nuit dans les zones comme le Mali où *W. bancrofti* a une périodicité nocturne.

- Examen du sang à l'état frais

Après piqûre au bout du doigt, on dépose une goutte de sang sur une lame que l'on recouvre d'une lamelle puis qu'on examine extemporanément au microscope au faible grossissement. Les microfilaires mobiles sont très facilement détectées, cependant il est difficile d'en faire un diagnostic d'espèce.

- Examen du sang sur goutte épaisse

C'est la méthode de choix. Après avoir effectué une bonne défibrination en effectuant un mouvement oscillatoire de l'intérieur vers l'extérieur lors de la confection de la goutte épaisse, on laisse sécher la goutte épaisse lentement de manière à éviter que les microfilaires ne meurent en contraction. On colore à l'aide d'une solution de Giemsa à 10% dans de l'eau distillée (PH=7). On peut pratiquer les GE calibrées (à 20 µl par lames) et faire trois lames par sujet.

- Frotti sanguin

La coloration au May-Grunwald Giemsa des microfilaires de Bancroft donne d'excellents résultats lorsqu'on veut mettre en évidence la structure du parasite. Comme pour la GE, on peut doubler le temps de coloration. Les microfilaires seront rassemblées à l'extrémité de l'étalement. Leur posture est artificielle, souvent elles sont absolument rectilignes.

Enfin la quantité de sang utilisée étant plus faible que celle d'une GE, on peut conclure à des examens faussement négatifs si la parasitémie est peu élevée.

3-8-1-1-c- Les méthodes d'enrichissement

- Centrifugation de sang citraté

On prélève 2ml de sang à l'aide d'une seringue contenant 1ml de citrate de sodium à 4/1000. Le mélange est centrifugé à faible vitesse (1500 tours/minute pendant 10 minutes). Le fond du culot est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur et examiné soit à l'état frais soit sur frottis coloré.

- Méthodes de sang laqué

On mélange 1ml de sang à 10 ml de formol à 2%, le sang est immédiatement laqué. Après centrifugation, on examine le culot, soit à l'état frais, soit coloré.

Dans cette dernière méthode, on peut remplacer la centrifugation par une filtration sur filtre « Millipore » de 5 microns directement adaptable sur seringue « Micro seringue Holder».

Les filtres de 25 mm de diamètre sont colorés au Giemsa, puis, après séchage, sont imprégnés d'huile à immersion, disposés sur une lame porte-objet et recouverts d'une lamelle. L'huile d'immersion a pour but de rendre translucide le filtre.

La cellule de numération facilite la détermination de la charge parasitaire d'une lame positive, elle est utilisable dans les régions où l'on a déjà identifié le parasite. Il est préférable de ne pas s'en servir dans les régions où il existe des infestations mixtes.

- La technique de concentration de knott

Cette technique constitue une solution de remplacement lorsqu'on ne dispose pas de membrane filtrante. Sa sensibilité est plus faible que la filtration sur une membrane car les microfilaries risquent davantage de rester emprisonnées dans le sédiment visqueux. Elle est similaire à la méthode du sang laqué décrite ci-dessus. Il s'agit de mélanger 1ml de sang total avec 9 ml de formol 2%; de laisser reposer pendant quelques minutes et de centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours / minute. Le surnageant est éliminé et le culot permettra non seulement un examen direct mais aussi un examen après coloration au giemsa sous microscope.

3-8-1-1-d- Recherche des microfilaries dans les autres milieux

Les microfilaries sont parfois absentes du sang alors qu'on peut en observer dans le liquide d'hydrocèle ou les urines ou les épanchements chyleux (ascite chyleux, chylurie) Les échantillons doivent être traités puis examinés par une des techniques de concentration décrites ci-dessus.

- Dans les urines

On peut retrouver les microfilaries de Bancroft dans un culot de centrifugation urinaire, surtout si l'on est en présence d'une chylurie. Cependant, il faut prendre garde de ne pas confondre les microfilaries de Bancroft avec celles d'*Onchocerca volvulus*.

En effet l'élimination des microfilaries d'*Onchocerca volvulus* par les urines est particulièrement fréquente, surtout après une prise de DEC.

- Dans l'épanchement chyleux

Lors d'une intervention chirurgicale sur une hydrocèle, on peut recueillir le liquide chyleux, le centrifuger, l'examiner au microscope et y mettre en évidence des microfilaires de Bancroft. Dans la pratique courante, il faut souligner que ces examens sont souvent négatifs.

3-8-2- Diagnostic immunologique

A l'analyse immunoélectrophorétique, l'électro-synérèse et l'ELISA sont les techniques utilisées pour la recherche des anticorps sériques. L'intradermo-réaction est peu spécifique et peu sensible.

3-8-3- Diagnostic par biologie moléculaire

PCR (Polymerase Chain Reaction) est une technique d'amplification génétique c'est à dire qu'elle permet de récupérer un fragment d'ADN ou de gène précis même présent en quantité infime dans un mélange puis de le multiplier rapidement. Des amorces spécifiques à *W. bancrofti* sont utilisées pour détecter la séquence d'ADN du parasite et de la multiplier dans les substances testées.

L'ADN de *W. bancrofti* a pu être détecté dans le sang, les crachats, le liquide d'hydrocèle et les urines par PCR conventionnelle [31-34].

3-8-4- Imagerie médicale

Elle consiste à la visualisation dans les vaisseaux lymphatiques profonds avec une sonde 3,5 ou 5 MHZ sur un appareil d'échographie la fameuse image de la « danse gracieuse » des filaires adultes même chez certains sujets porteurs de signes cliniques chroniques et très souvent amicrofilarémiques [30, 35, 36].

3-9- Traitement

3-9-1- But du traitement

- Eliminer les microfilaires du sang chez les sujets infectés par des traitements de masse, afin d'interrompre la transmission du parasite par le moustique.

- Réduire les incapacités causées par la filariose lymphatique chez des sujets qui souffrent de manifestations chroniques par la mobilisation sociale, l'éducation pour la santé, le soutien psychosocial, la prise en charge de l'hydrocèle, du lymphœdème et la plus grande intégration socio-économique.

3-9-2- Moyens du traitement

Moyens médicamenteux: les médicaments courant utilisés et recommandés par l’OMS sont: l’ivermectine, l’albendazole et la Diéthylcarbamazine (DEC) ce dernier ne peut pas être utilisé au Mali à cause de l’existence de l’Onchocercose.

Ivermectine (Mectizan®)

L’ivermectine se présente sous forme de comprimé dosé à 3 mg et 6 mg. Il est surtout utilisé pour le traitement de l’onchocercose et de la filariose due à *W. bancrofti* [21].

L’administration de l’ivermectine se fait par voie orale. Il est administré suivant la taille en campagne de masse ou suivant le poids.

Les contre-indications sont surtout l’hypersensibilité à l’un des constituants, la grossesse et l’âge inférieur à 18 mois.

Les effets secondaires les plus rencontrés sont: la fièvre, les céphalées, les troubles digestifs tels que la nausée, les vomissements, l’asthénie et les douleurs articulaires [28].

Le traitement consiste en une dose orale unique annuelle donnée en fonction de la taille selon le tableau suivant:

Taille en cm	Nombre de comprimé
90 à 119	1
120 à 140	2
141 à 158	3
>158	4

La concentration plasmatique est atteinte 4 heures après l’administration du produit. L’ivermectine est métabolisée dans l’organisme et l’ivermectine et/ou ses métabolites sont excrétés presque exclusivement dans les fèces durant environ 12 jours alors que moins de 1% de la dose administrée est excrétée dans les urines. Sa demi-vie plasmatique chez l’homme est d’environ 12 heures et celles des métabolites environ 3 jours.

Albendazole

L’albendazole se présente sous forme de comprimé dosé à 400 mg. Il est efficace sur la plus part des helminthiases. La concentration plasmatique maximale est atteinte en 2

heures 30 minutes après administration et sa demi-vie est de 8 heures 30 minutes. L'élimination est essentiellement urinaire.

Dans le traitement de la filariose lymphatique à *W. bancrofti* par le PNEFL, il est donné à raison de 400 mg en association avec soit l'ivermectine ou la DEC.

Les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans sont exclus du traitement.

Les effets indésirables les plus fréquents sont la fièvre, céphalée, nausée, vomissement et arthralgie aiguë [28].

3-9-3- Traitement communautaire

Le traitement d'une communauté touchée a pour but d'éliminer les microfilaires du sang chez les sujets infestés afin d'interrompre la transmission du parasite par le moustique. De récentes études ont montré que les doses uniques de DEC ont le même effet réducteur à long terme (1an) sur la microfilarémie que les doses de DEC d'une durée de 12 jours jusqu'alors recommandés et, fait plus important encore que l'administration simultanée de doses uniques de deux médicaments (dans l'idéal l'ivermectine ou DEC associé à l'albendazole) permet avec une efficacité de 99% d'éliminer les microfilaires du sang pendant toute une année après le traitement. C'est ce niveau d'efficacité thérapeutique qui a rendu possible l'application des nouvelles mesures destinées à éliminer la filariose lymphatique.

3-9-4- Traitement de cas individuel

De toute évidence le traitement antiparasitaire peut apporter une amélioration chez les malades souffrant d'éléphantiasis et d'hydrocèle surtout au stade primaire de la maladie. La découverte que la progression de la maladie résulte principalement d'une surinfection bactérienne et fongique des tissus dont la fonction lymphatique est bloquée par l'infection a considérablement modifié le traitement des cas individuels. C'est pourquoi une hygiène rigoureuse des membres atteints accompagnée de mesures supplémentaires pour réduire le risque de surinfection, stimuler le flux de lymphes permet à la fois de minimiser les crises inflammatoires aiguës (fièvre filarienne) et d'améliorer de façon spectaculaire l'éléphantiasis elle-même [22].

3-9-5- Le traitement des signes cliniques chroniques

3-9-5-1- Hydrocèle: chirurgie

3-9-5-2- Lymphangite: antalgique, anti-inflammatoire, antibiotique

3-9-5-3- Lymphœdème et éléphantiasis: leurs traitement repose sur [37]

- L'hygiène corporelle;
- La surélévation du membre atteint;
- Les exercices physiques;
- L'usage d'antiseptiques locaux, d'antibiotiques et d'anti-inflammatoires au besoin.

Devant un cas d'éléphantiasis en cas d'échec des moyens précédemment cités on fera recours à la chirurgie.

3-9-6- Traitement prophylactique

Il repose essentiellement sur le traitement communautaire et la lutte anti-vectorielle:

- Usage de moustiquaires imprégnées;
- usage des larvicides;
- assainissement des milieux de vies;
- destruction des gîtes larvaires;
- la chimiothérapie est utilisée par certains sujets se rendant en zone d'endémie mais son efficacité est discutée et le principe contre versé.

4- Méthodologie

4-1- Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude entomologique de type transversal avec 4 passages allant de décembre 2004 à décembre 2005 à raison de 3 jours par village.

Cette étude consistait à évaluer le niveau de transmission de la filariose lymphatique par la détection de l'ADN de *W. b* au sein des lots de moustiques avant et après le 1^{er} TDM. A cet effet 2 techniques PCR (PCR en temps réel et PCR conventionnelle) ont été utilisées et les résultats de la technique la plus sensible ont été utilisés.

4-2- Sites d'étude

Cette étude s'est déroulée dans la région de Sikasso située à 350 kilomètres de Bamako la capitale. C'est la troisième région administrative du Mali sur huit. Les villages retenus comme sites sentinelles sont Zankoundougou (Kadiolo), Kola (Kolondièba), Sirakoro (Bougouni), Niakoni (Yanfolila). La région de Sikasso est située au sud du Mali en zone sud soudanienne avec des pluviométries assez abondantes par rapport aux autres régions du Mali. L'agriculture et l'élevage sont les principales activités en milieu rural. Sikasso est la première région productrice de coton au Mali. Le relief est essentiellement plat. Dans chaque village il y a au moins une retenue d'eau temporaire (rivière, marigots). Ces retenues d'eau sont des gîtes potentiels pour les moustiques vecteurs de la filariose lymphatique.



Figure 9: Partie sud de la République du Mali montrant la région de Sikasso avec les différents sites sentinelles: source MRTIC/Filariose 2011

4-3- Choix des villages

Cette étude s'est déroulée dans les 4 districts sanitaires les plus endémiques à la filariose lymphatique dans la région de Sikasso (Kadiolo, Bougouni, Yanfolila et Kolondiéba). Les villages ont été choisis pour sites sentinelles selon un certain nombre de critères:

Accessibilité en toute saison

Taille de la population d'au moins 900 habitants

Prévalence élevée de l'hydrocèle et de l'éléphantiasis

Prévalence élevée de l'antigène filarien circulant par carte ICT

L'unité spatiale était le district sanitaire. Etant donné que tous les villages de la région ont été traités et que des données parasitologiques existaient déjà sur certains villages, nous avons de façon aléatoire dans chacun des 4 districts sanitaires un des villages déjà connus comme endémique. Ceci en raison de la distribution très focale des villages ou des foyers endémiques.

4-3-1- Géographie

La région est traversée par de nombreux cours d'eau, affluents du fleuve Niger (Wassoulou, Baoulé, Bagoé, Banifing...).

Les grandes villes de la région sont Sikasso, Koutiala, Bougouni, Kadiolo, Yanfolila et Kolondiéba.

4-3-2- Historique

4-3-2-a- Culture

Dans ce « pays des Sénoufos », le balafon est l'instrument traditionnel, présent dans toutes les fêtes et cérémonies.

La région de Sikasso est divisée en 7 cercles (Bougouni, Kadiolo, Kolondiéba, Koutiala, Sikasso, Yanfolila et Yorosso) regroupant 148 communes.[54]

4-3-2-b- Situation

Ces 4 villages sont situés dans la région de Sikasso en zone soudanienne. La région de Sikasso est limitée au Nord-Ouest par la région de Koulikoro, au Nord-est par la

région de Ségou, à l'Ouest par le Burkina Faso, au Sud par la Côte d'Ivoire et à l'Est par la Guinée.

Kola: village de la préfecture de Kolondiéba faisant partie de la sous préfecture de Kolondiéba. Il se situe à une distance de 12 kilomètre de Kolondiéba et présente les coordonnées géographiques suivantes: latitude 10,994030 et longitude -6,960430. L'agriculture et l'élevage sont les activités dominantes. La population totale est estimée à 930 habitants.

Niakoni: village de la préfecture de Yanfolila faisant partie de la sous préfecture de Doussoudiana. Ce village est à 3 kilomètre de Doussoudiana et à 55 kilomètre de Yanfolila avec des coordonnées de 11,18797 latitude et -7,88519 longitude. L'agriculture et l'élevage sont les activités dominantes. La population totale est estimée à 958 habitants.

Sirakoro: village de la préfecture de Bougouni faisant partie de la sous préfecture de Zantiébougou. Il est à une distance de 10 kilomètre de Zantiébougou avec des coordonnées de 11,399260 latitude et -7,161270 longitude. L'agriculture et l'élevage sont les activités dominantes. La population totale est estimée à 783 habitants.

Zankoundougou: village de la préfecture de Kadiolo faisant partie de la sous préfecture de Dioumatènè. Il est situé une distance de 7 kilomètre de Dioumatènè et 15 kilomètre de Kadiolo avec des coordonnées de 10,600900 latitude, et -5,930520 longitude. Il a pour activité dominante l'agriculture et l'élevage. La population totale est estimée à 965 habitants

4-3-2-c- Pluviométrie et végétation

Le climat est de type tropical soudanien, avec des précipitations plus élevées que la moyenne du Mali. La végétation est de type soudanien avec des arbres comme le néré, le karité, le caïcédrats...

4-3-2-d- Economie

La région est desservie par l'Aéroport de Sikasso. Le réseau routier principal permet la liaison Bamako – Bougouni - Sikasso et Bla – Koutiala – Sikasso et la frontière ivoirienne. La clémence du climat et la fertilité des sols fait de la région « le grenier » du Mali. Les productions agricoles sont en effet importantes: céréales et fruits (notamment les mangues). La culture du coton est particulièrement développée (deux tiers de la production malienne). La culture du thé a été développée dernièrement.

Le sous-sol est riche en minerais (lithium, or, aluminium, nickel, diamant).

La région de Sikasso est la deuxième région industrielle du Mali, après Bamako.

Située au carrefour des pays côtiers, notamment de la Côte d'Ivoire et des pays enclavés comme le Burkina Faso, la région a profité des transferts de marchandises mais a subi les contrecoups de la guerre civile de la Côte d'Ivoire.

4-3-2-e- Habitats

Les habitats sont de type traditionnel qui contraste avec les maisons modernes. L'habitat traditionnel est fait de case rondes surmontées de chaumes en paille tressée. Cependant les maisons modernes sont faites de chambres carrées couvertes de tôles ou habitent les plus nantis grâce au commerce du coton qui constitue la principale ressource financière

4-3-2-f- Histoire et peuplement

La population de la région est estimée à plus de 2 millions habitants. Différentes ethnies vivent dans la région : Sénoufos, Maures, Peulhs, Bambaras. Sikasso est une cité sénoufos fondé au XIX^e siècle par Mansa Douala qui régnait sur le royaume du Kéné Dougou. Son fils, Tiéba Traoré, qui régna de 1876 à 1893, fit construire le tata (forteresse défensive autour de la ville) pour protéger la capitale du royaume contre les attaques de Samory Touré et de l'armée coloniale française.

Pourtant, la ville tombera le 1^{er} mai 1898 après un bombardement de la ville assiégée pendant deux semaines. Babemba Traoré qui régnait alors se donna la mort plutôt que d'assister à l'entrée des troupes coloniales dans Sikasso.

4-4-Plan de travail

4-4-1- La technique de capture (Spray catch ou capture de jour)

Les captures de jours seront effectuées par la méthode de «Pyrethrum spray-catch» (PSC) ou aspersion d'insecticide, utilisant un insecticide en aérosol contenant 0,3% de pyréthrine, connu sous le nom commercial de «Premium[®]».

4-4-2- Echantillonnage

L'échantillonnage a concerné tous les moustiques du genre *Anopheles gambiae s.l* et *Anopheles funestus* capturés après aspersion d'insecticide à base de pyréthrine (Premium[®]) durant l'enquête.

4-4-3- Recherche de l'ADN de *Wuchereria bancrofti* au sein des lots moustiques au laboratoire

C'est la technique PCR [55] qui a été utilisée. C'est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985 par Karry Mullis. Il s'agit d'une technique d'amplification génétique, qui permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de le multiplier rapidement.

Au paravent une telle opération passait nécessairement par le clonage de la séquence, son isolement, son amplification dans une cellule hôte et sa purification. Cette méthode extrêmement lourde et longue a été abandonnée au profit de la PCR qui a certainement connu le développement le plus spectaculaire et le plus rapide dans l'histoire de la biologie.

En effet moins de 3 ans après sa mise au point, tous les laboratoires de biologie moléculaire l'on utilisé.

La PCR en temps réel et la PCR conventionnelle ont été utilisées pour la détection de l'ADN de *W. b* et le test le plus sensible a été pris pour le reste des tests et déterminer le taux d'infection par <<Pool Screen[®]>>

4-4-3-a- Principe

Le principe de la PCR est d'utiliser de manière répétitive l'une des propriétés des ADN polymérase: celle de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir d'une amorce.

4-4-3-b-Elément de bases de la PCR

ADN (acide désoxyribonucléique), il se présente généralement sous forme double brin, contenant le fragment à amplifier.

Cet aspect est illustré comme suit:



Amorces (il s'agit ici des amorces sens et anti sens), ce sont de petits brins d'ADN d'environ 20 bases encore appelés oligo-nucléotides capables de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases, sur le brin d'ADN ou sur son brin complémentaire. Les amorces sont choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier.

Enzyme, il s'agit ici de la Taq polymérase (Taq pol), un ADN polymérase thermorésistant extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*. Sa température optimale d'action est de 72°C et elle est capable de résister à des variations successives à 95°C ce qui a rendu possible l'automatisation de la procédure.

Quatre nucléotides il s'agit de la dGTP, dATP, dTTP, dCTP appelées couramment dNTPs (desoxynucleotides-tri phosphates), sont les éléments de bases utilisés par la Taq pol pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires.

4-4-3-c- Etapes de la technique d'extraction

- Extraction de l'ADN matricielle

Les provisions dont on a besoin par échantillon:

1 grinding tube (tubes Eppendorf à fond rond de 2 ml)

1 Bille en zinc

2 tubes Eppendorf (1.5 ml)

1 tube column/wash DNeasy (dans le kit)

1X PBS

La solution Protéinase K (dans le kit)

95-98% Et OH