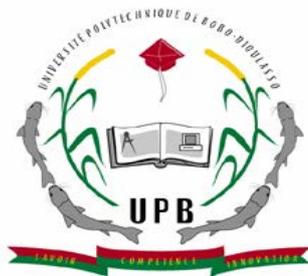


UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL

Département d'Elevage



N° d'ordre :

THESE

Présentée par

Essodina TALAKI

Docteur Vétérinaire

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO
(DOCTORAT UNIQUE)**

Doctorat en Gestion Intégrée des Ressources Naturelles

Option : Systèmes de Productions Animales

Spécialité : Santé Animale Tropicale

**Etude de la résistance des trypanosomes à l'isoméamidium et au
diminazène dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest
(Mali - Guinée - Burkina Faso)**

**Soutenue publiquement le 16 Avril 2008
devant le jury composé de :**

Mr Hamidou BOLY, Professeur à l'UPB (Bobo-Dioulasso)

Mr Louis Joseph PANGUI, Professeur à l'EISMV (Dakar)

Mr Adrien M. G. BELEM, Maître de Conférences à l'UPB (Bobo-Dioulasso)

Mr Issa SIDIBE, Chercheur au CIRDES (Bobo-Dioulasso)

Mr Stanny GEERTS, Professeur à l'Institut de Médecine Tropicale (Anvers/Belgique)

Mr Ayayi Justin AKAKPO, Professeur à l'EISMV (Dakar)

Mr Jean-Bosco OUEDRAOGO, Directeur de Recherche, IRSS (Bobo-Dioulasso)

Président du jury

Directeur de thèse

Directeur de thèse

Directeur de thèse

Rapporteur

Rapporteur

Rapporteur

DEDICACE

Honneur et Gloire au Dieu Tout-Puissant !

« L'Éternel est mon Berger : je ne manquerai de rien ».

Psaumes 23 : 1

Ce travail est dédié :

- *A ma très chère regrettée mère: TALAKI Halo née ASSIH ;*
- *A mon très cher père: TALAKI Yao ;*
- *A mon petit frère et petites sœurs : Essoholam, Cilalo et Fègbawè ;*
- *A notre fille TALAKI Essoyoméwè Bénédicte et à sa maman BATIONO Roséline ;*
- *A toute ma famille ;*
- *A tous nos amis ;*
- *Et à tous mes maîtres.*

A vous tous :

Recevez ici ma profonde gratitude pour vos prières et multiples soutiens !

Merci mon Dieu pour tous tes bienfaits !

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été financée par la Coopération allemande sous le projet ILRI/BMZ-2. Ce projet a été coordonné par L'ILRI (International Livestock Research Institute) à Nairobi au Kenya et en partenariat avec plusieurs centres et institutions de recherche dont le Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide (CIRDES) de Bobo-Dioulasso au Burkina Faso, les Universités Libre de Berlin et de Hannover en Allemagne, le Laboratoire Central Vétérinaire (LCV) et l'Unité Centrale de Lutte contre la Trypanosomose (UCLT) à Bamako au Mali, International Trypanotolerance Centre (ITC) de Banjul en Gambie et la Direction Nationale de l'Elevage/Institut de Recherche Agronomique de Guinée (DNE/IRAG). Nos remerciements aux administrateurs, chercheurs, techniciens et agents de toutes les différentes institutions impliquées dans ce projet, en particuliers ceux du CIRDES, du LCV et de l'Institut de l'Economie Rurale/Centre Régional de Recherche Agricole (IER/CRRA) de Sikasso (Mali).

Nos sincères remerciements au :

- Professeur Abdoulaye Soumana GOURO, Directeur Général du CIRDES qui a bien voulu nous accepter au sein de son institution ;
- Docteur Issa SIDIBE, notre maître de stage et Directeur Scientifique du CIRDES, pour avoir assuré l'encadrement de ce travail, pour sa compréhension et pour son soutien;
- Monsieur Omar KONE, Directeur Administratif et Financier du CIRDES ;
- Docteur Thomas RANDOLPH, Coordonnateur général du projet et chercheur à l'ILRI;
- Docteur Oumar DIALL, Coordonnateur régional du projet, pour toute sa collaboration ;
- Docteur Peter-Henning CLAUSEN de l'Université Libre de Berlin;
- Professeurs Louis Joseph PANGUI, Ayayi Justin AKAKPO, Ayao MISSOHOU et Rianatou Bada ALAMBEDJI de l'EISMV de Dakar pour leurs conseils et encouragements ;
- Professeurs Adrien Marie Gaston BELEM et Anicet Georges OUEDRAOGO de l'UPB, pour toute leur disponibilité et pour leur parfaite compréhension ;

- Professeur Marc KPODEKON de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi au Bénin, pour ses précieux conseils ;
- Docteurs Aligui DJITEYE et Zakaria BOCOUM du LCV ;
- Docteurs Zakaria BENGALY, Seyni HAMADOU et Mamoudou SANGARE du CIRDES ;
- Madame Toussaint SOURA, Monsieur Oumarou BAMBA et Madame Mariam OUEDRAOGO du CIRDES ;
- Docteur Boucader DIARRA de l'UCLT ;
- Monsieur Moulaye SANGARE de l'IER/CRRA de Sikasso ;
- Tout le personnel du CIRDES ;
- Docteurs Grâce DELIA, Hippolyte AFFOGNON, Alpha Madiou BARRY, Ingenieur Hamady DJOUARA et Maîtres Der DABIRE et Dramane DAO ;
- Docteurs Balabadi B. DAO, Guiguigbaza-Kossigan DAYO, Ali K. KADANGA, Anani A. BANKOLE, Rock A. LAPO, Hassane ADAKAL, Assiongbon TEK-AGBO, Oubri B. GBATI, Bachir SOULEY KOUATO, Hervé VITOLEY et Dramane KABA, pour les moments agréables que nous avons passés ensemble;
- Ingénieurs Micheline OUEDRAOGO, Aicha SOUARA, Jean-Baptiste RAYAISSE, Jacques KABORE, Bienvenu SOMDA, Mariam TRAORE, Séverin NDO, Massouroudini AKOUDJIM et Nafirma KONE, pour les moments agréables que nous avons passés ensemble au CIRDES ;
- Techniciens, chauffeurs et autres agents du CIRDES et du LCV qui nous ont accompagné dans la réalisation de ce travail ;
- Tous les camarades stagiaires au CIRDES ;
- Madame et Monsieur COULIBALY Grégoire ;
- Tous les frères et sœurs de l'Eglise Centrale de l'Alliance Chrétienne de Bobo-Dioulasso ;
- Burkina Faso, Mali et Sénégal, pays hôtes.

Enfin, j'adresse mes vifs remerciements à tous ceux qui m'ont apporté leur concours et que je ne peux citer individuellement.

A NOS MAITRES ET JUGES

Monsieur Hamidou BOLY, *Professeur à l'UPB (Bobo-Dioulasso)*

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider le jury de cette thèse. Vos qualités humaines, scientifiques et votre disponibilité suscitent beaucoup d'admiration.

Hommage respectueux et profonde gratitude.

Monsieur Louis Joseph PANGUI, *Professeur à l'EISMV (Dakar)*

Vous m'avez fait confiance en acceptant encadrer et diriger ce travail. Votre humour paternel et surtout vos qualités d'homme de science suscitent autour de vous l'estime et le respect de tous.

Profonde reconnaissance.

Monsieur Adrien Marie Gaston BELEM, *Maître de Conférences à l'UPB (Bobo-Dioulasso)*

Vous avez accepté de codiriger cette thèse malgré vos occupations multiples. Votre disponibilité, vos qualités intellectuelles, professionnelles et humaines nous ont beaucoup marqué.

Soyez assuré de notre profonde gratitude.

Monsieur Issa SIDIBE, *Chercheur au CIRDES (Bobo-Dioulasso)*

C'est un honneur et un plaisir pour nous d'avoir pu travailler à vos côtés. Votre sympathie et vos qualités scientifiques nous ont profondément marqué. Je ne saurai ici mesurer la grandeur de votre soutien, de votre ouverture et de votre sens de l'humanisme.

Profonde reconnaissance.

Monsieur Stanny GEERTS, *Professeur à l'Institut de Médecine Tropicale (Anvers/Belgique)*

Ce n'est pas un hasard si nous avons souhaité que vous examiniez ce travail. Vos qualités scientifiques et votre disponibilité suscitent beaucoup d'admiration.

Sincères remerciements.

Monsieur Ayayi Justin AKAKPO, *Professeur à l'EISMV (Dakar)*

Malgré vos occupations multiples, vous avez accepté juger ce travail. Votre abord facile et votre constante disponibilité témoignent encore une fois de vos qualités professionnelles et humaines.

Profonde gratitude.

Monsieur Jean-Bosco OUEDRAOGO, *Directeur de Recherche, IRSS (Bobo-Dioulasso)*

Vous avez accepté rapporter ce travail malgré vos occupations multiples. Ceci témoigne encore une fois de vos qualités professionnelles et humaines.

Sincères remerciements.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX -----	i
LISTE DES FIGURES-----	iii
RESUME -----	v
ABSTRACT-----	vii
INTRODUCTION GENERALE -----	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE : Epidémiologie des trypanosomoses animales et les phénomènes de chimiorésistance -----	5
GENERALITES SUR LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES-----	6
1- Données générales sur les trypanosomoses animales africaines-----	6
1.1- Définition et répartition géographique-----	6
1.2- Importance socio-économique-----	8
1.3- Agents pathogènes : les trypanosomes -----	9
1.3.1- Définition -----	9
1.3.2- Taxonomie -----	9
1.3.3- Morphologie et structure -----	12
1.3.4- Biologie des trypanosomes -----	14
1.3.4.1- Nutrition – Respiration – Excrétion -----	14
1.3.4.2- Mode de multiplication -----	14
1.3.4.3- Cycle de développement-----	14
1.3.4.3.1- Chez le vecteur-----	16
1.3.4.3.2- Chez l’hôte mammifère-----	18
1.4- Vecteurs -----	18
1.4.1- Espèces et sous-espèces de glossines -----	18
1.4.2- Morphologie externe de la glossine-----	20
1.4.3- Appareil digestif de la glossine -----	21
1.4.4- Appareil excréteur de la glossine -----	22
1.5- Etude clinique des trypanosomoses animales africaines -----	23
1.5.1- Pathogénie -----	23
1.5.1.1- Anémie -----	23
1.5.1.2- Lésions tissulaires -----	24
1.5.1.3- Immunodépression-----	24

1.5.2- Diagnostic-----	25
1.5.2.1- Diagnostic clinique -----	25
1.5.2.2- Examens parasitologiques -----	25
1.5.2.2.1- Prélèvements et conservation -----	25
1.5.2.2.2- Examens microscopiques directs -----	25
1.5.2.2.3- Examens microscopiques après concentration-----	26
1.5.2.2.4- Culture des parasites -----	27
1.5.2.3- Détection d'antigènes -----	28
1.5.2.4- Détection d'anticorps-----	28
1.5.2.5- Diagnostic par PCR-----	29
2- Méthodes de lutte contre les trypanosomoses animales -----	29
2.1- Lutte anti-vectorielle-----	30
2.1.1- Méthodes non chimiques-----	30
2.1.1.1- Lutte écologique -----	30
2.1.1.2- Lutte biologique-----	31
2.1.1.3- Lutte mécanique -----	32
2.1.2- Méthodes chimiques -----	33
2.2- Lutte par gestion des troupeaux -----	34
2.3- Intervention contre les parasites-----	34
2.3.1- Chlorure d'isométymidium -----	35
2.3.2- Acéturate de diminazène -----	36
2.3.2- Homidium-----	37
3- Phénomène de chimiorésistance-----	38
3.1- Définitions -----	38
3.2- Situation actuelle de la chimiorésistance-----	40
3.3- Mécanismes de la résistance -----	40
3.4- Méthodes de détection de la résistance aux trypanocides-----	41
3.4.1- Tests sur les ruminants -----	42
3.4.2- Tests sur les souris -----	42
3.4.3- Tests sur les cultures de trypanosomes (<i>in vitro</i>) -----	43
3.4.4- Méthode ELISA de détection de médicaments-----	43
3.4.5- Données parasitologiques des enquêtes de terrain-----	44
3.4.6- Diagnostic moléculaire de la chimiorésistance-----	45
4- Stratégies de lutte contre les trypanosomoses africaines et leurs vecteurs -----	45

PARTIE EXPERIMENTALE: Etude de la résistance des trypanosomes à l'isoméamidium et au diminazène dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest-----	46
CADRE DE L'ETUDE -----	47
1- Présentation générale-----	47
1.1- Province du KénéDougou au Burkina Faso -----	48
1.2- Zone d'étude au Mali -----	50
1.3- Préfecture de Mandiana en Guinée -----	52
REPARTITION SPATIALE DES TRYPANOSOMOSE ANIMALES EN RELATION AVEC LA CHIMIORESISTANCE DANS LA ZONE COTONNIERE DE L'AFRIQUE DE L'OUEST (MALI ET GUINEE)-----	55
Introduction-----	57
1- Matériel et méthodes -----	57
1.1- Zone d'étude -----	57
1.2- Méthodes -----	58
1.2.1- Enquêtes transversales-----	58
1.2.1.1- Méthode d'échantillonnage-----	59
1.2.1.2- Enquêtes parasitologiques -----	59
1.2.1.3- Enquêtes entomologiques-----	60
1.2.1.4- Traitements trypanocides -----	60
1.2.2- Enquêtes longitudinales -----	60
1.3- Analyse de données -----	61
2- Résultats et discussions -----	61
2.1- Prévalences parasitologiques -----	61
2.2- Espèces de trypanosomes -----	64
2.3- Hématocrite (Packed Cell Volume: PCV) -----	65
2.4- Entomologie -----	67
2.2- Chimiorésistance -----	68
Conclusion-----	70
Références bibliographiques -----	71
Remerciements-----	73
VARIATIONS SAISONNIERES ET FACTEURS DE RISQUES DES TRYPANOSOMOSE ANIMALES DANS UN CONTEXTE DE CHIMIORESISTANCE DANS LA ZONE DE SIKASSO AU MALI-----	75
Introduction-----	77

1- Matériel et méthodes -----	78
1.1- Zone d'étude -----	78
1.2- Méthodes -----	79
2- Résultats et discussion -----	81
2.1- Prévalences parasitologiques et types d'infection-----	81
2.2- Hématocrite (Packed Cell Volume : PCV)-----	84
2.3- Entomologie -----	86
2.4- Relation entre la densité des glossines et le taux d'infection chez les bovins -----	89
2.5- Résistance à l'acéturate de diminazène-----	92
Conclusion-----	94
Références bibliographiques -----	94
Remerciements-----	98
METHODE DE DIAGNOSTIC RAPIDE DE LA RESISTANCE DES TRYPANOSOMES A L'ISOMETAMIDIUM ET AU DIMINAZENE SUR LE TERRAIN -----	99
Introduction-----	101
1- Matériel et méthodes -----	102
1.1- Enquêtes transversales -----	103
1.2- Enquêtes longitudinales -----	103
1.3- Analyse des données -----	104
1.3.1- Evaluation de la résistance à l'isométagidium-----	104
1.3.2- Evaluation de la résistance au diminazène-----	105
2- Résultats -----	105
2.1- Enquêtes transversales -----	105
2.2- Enquêtes longitudinales -----	107
2.2.1- Evaluation de la résistance à l'isométagidium-----	108
2.2.1.1- Effet préventif-----	108
2.2.1.2- Effet curatif-----	113
2.2.2- Evaluation de la résistance au diminazène-----	114
2.2.3- Résistance à l'isométagidium par espèce de trypanosome-----	115
3- Discussion -----	116
Conclusion-----	117
Références Bibliographiques -----	118
Remerciements-----	120

CONTRIBUTION A L'AMELIORATION DE LA SENSIBILITE DES METHODES DE TERRAIN POUR LA DETECTION DE LA CHIMIORESISTANCE A L'AIDE DES PRELEVEMENTS SUR DU PAPIER FILTRE ET DE LA PCR AVEC DES AMORCES ITS -----	121
Introduction-----	123
1- Matériel et méthodes -----	124
1.1- Echantillonnage, prélèvements et diagnostic -----	124
1.2- Traitement au Chelex [®] 5 % -----	125
1.3- Polymerase chain reaction : PCR -----	125
2- Résultats et discussion -----	127
2.1- Prévalences parasitologiques -----	127
2.2- Types d'infection-----	128
3- Recommandations -----	130
Conclusion-----	132
Références bibliographiques -----	132
Remerciements-----	134
CONCLUSION GENERALE-----	135
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	140
ANNEXES -----	161

LISTE DES TABLEAUX

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

GENERALITES SUR LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES

Tableau I: Espèces et sous espèces de glossines (par sous-genre ou groupe) -----	19
Tableau II: Résistances croisées entre trypanocides utilisés chez les bovins -----	39

PARTIE EXPERIMENTALE

Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l’Afrique de l’Ouest (Mali et Guinée)

Tableau I: Comparaison des prévalences moyennes entre les différentes zones-----	63
Tableau II: PCV moyen enregistré par zone -----	66
Tableau III: Comparaison des PCV moyens par zone (écart réduit au seuil 5%) -----	66

Variations saisonnières et facteurs de risques des trypanosomoses animales dans un contexte de chimiorésistance dans la zone de Sikasso au Mali

Tableau I : Effectifs de bovins suivis par village et par période -----	80
Tableau II: Prévalences parasitologiques par village et par période -----	81
Tableau III: PCV moyen en différentes périodes par statut parasitologique -----	84
Tableau IV: Echec de traitement à l’acéturate de diminazène -----	94

Méthode de diagnostic rapide de la résistance des trypanosomes à l’isoméamidium et au diminazène sur le terrain

Tableau I: Prévalences et densités apparentes par piège (DAP) -----	106
Tableau II: Données par site sur 28 jours et sur 56 jours de suivi -----	108
Tableau III: Résultats de l’analyse des données sur 28 jours par le test de χ^2 -----	109
Tableau IV: Résultats de l’analyse des données sur 56 jours par le test de χ^2 -----	110
Tableau V : Comparaison des résultats entre méthodes d’analyse -----	111
Tableau VI: Réduction Relative du Risque (RRR) -----	112
Tableau VII: Taux de rechute après traitements à l’isoméamidium -----	113
Tableau VIII : Taux de rechute de traitement au diminazène par site -----	114
Tableau IX: Echecs de traitement dans l’espèce <i>T. congolense</i> -----	115
Tableau X : Echecs de traitement dans l’espèce <i>T. vivax</i> -----	116

Contribution à l'amélioration de la sensibilité des méthodes de terrain pour la
détection de la chimiorésistance à l'aide des prélèvements sur du papier filtre et de
la PCR avec des amorces ITS

Tableau I: Noms et séquences du couple d'amorces TRYP-B -----	125
Tableau II : Prévalences comparées entre la microscopie et la PCR -----	127
Tableau III: Espèces de trypanosomes révélés par la BCT et par PCR -----	128
Tableau IV: Protocole d'évaluation de l'effet préventif de l'isométabidum sur 28 ou sur 56 jours -----	130
Tableau V: Protocole d'évaluation de l'effet curatif de l'isométabidum ou du diminazène -----	131
Tableau VI: Protocole d'évaluation simultanée de l'efficacité de l'isométabidum et du diminazène sur 28 ou sur 56 jours -----	131

LISTE DES FIGURES

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

GENERALITES SUR LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES

Figure 1 : Carte de répartition des glossines -----	7
Figure 2 : Taxonomie des trypanosomes de mammifères -----	10
Figure 3 : Ultrastructure des trypanosomes -----	13
Figure 4 : Cycle évolutif des trypanosomes -----	15
Figure 5 : Localisation des trois principales espèces de trypanosomes pathogènes chez la glossine -----	17
Figure 6 : Morphologie générale d'une glossine -----	21
Figure 7 : Appareil digestif d'une glossine -----	22

PARTIE EXPERIMENTALE

CADRE DE L'ETUDE

Figure 1 : Zone d'étude -----	47
Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée)	
Figure 1 : Zone d'étude -----	58
Figure 2 : Prévalence des TAA chez les bovins -----	62
Figure 3 : Prévalences des TAA -----	63
Figure 4 : Pourcentage des infections par espèce parasitaire -----	65
Figure 5 : Densité apparente par piège (DAP) par espèce de glossine -----	68
Figure 6 : Chimiorésistance à l'ISMM dans la ceinture cotonnière au Mali et en Guinée -----	69
Figure 7 : Chimiorésistance à l'ISMM dans la zone de Sikasso -----	70
Variations saisonnières et facteurs de risques des trypanosomoses animales dans un contexte de chimiorésistance dans la zone de Sikasso au Mali	
Figure 1 : Zone d'intervention -----	78
Figure 2 : Différents types d'infection par espèce de trypanosome -----	83

Figure 3 : Pourcentage des infections par espèce de trypanosome et par période -----	84
Figure 4 : DAP par espèce de glossine et par période -----	87
Figure 5 : Proportion des espèces de glossines capturées par période -----	88
Figure 6 : DAP et Prévalence en saison pluvieuse (Août) -----	91
Figure 7 : DAP et Prévalence en saison sèche froide (Décembre) -----	91
Figure 8 : DAP et Prévalence en saison sèche chaude (Avril) -----	91
Figure 9 : Courbe de corrélation entre la densité et la prévalence -----	92

Contribution à l'amélioration de la sensibilité des méthodes de terrain pour la
déttection de la chimiorésistance à l'aide des prélèvements sur du papier filtre et de
la PCR avec des amorces ITS

Figure 1 : Cycles d'amplification en PCR -----	126
Figure 2 : Gel d'agarose après migration -----	129

RESUME

Les trypanosomoses animales africaines (TAA) demeurent une des contraintes majeures au développement de l'élevage en Afrique subsaharienne et plus particulièrement dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest où l'élevage bovin fournit des bœufs pour des travaux agricoles.

Des enquêtes transversales (2002-2004) réalisées dans 89 villages (au Mali et en Guinée), ont porté sur 5 474 bovins. Suite à ces enquêtes, plusieurs villages suspects ont fait l'objet d'enquêtes longitudinales pour mettre en évidence des échecs de traitements aux trypanocides (isométymidium et diminazène) sur des bovins.

L'analyse spatiale des résultats a montré que l'ampleur des prévalences parasitologiques dans la zone d'étude, décroît de l'Est à l'Ouest. Sikasso-Est (Mali) est la partie la plus affectée avec une prévalence parasitologique moyenne de 6,3% contre 5% à Sikasso-Ouest (Mali), 2,9% à Bougouni-Yanfolila (Mali) et 2,8% à Mandiana (Guinée). Une nette prédominance des infections à *Trypanosoma brucei* (59%) a été décelée à Mandiana en Guinée. L'espèce *Glossina palpalis gambiensis* est retrouvée dans toute la zone d'étude. *Glossina tachinoides* quant à elle, n'a été capturée que du côté du territoire malien avec une densité apparente par piège (DAP) de 2,74 à Sikasso-Est et de 0,64 dans la zone Bougouni-Yanfolila. Pour l'espèce de savane (*Glossina morsitans submorsitans*), une DAP de 0,09 a été obtenue à Mandiana.

Une étude de la variation saisonnière dans 11 sites du cercle de Sikasso, a montré une hétérogénéité dans l'évolution des prévalences parasitologiques. De fortes prévalences parasitologiques ont été enregistrées en saison pluvieuse dans les sites de Diassadié (34%) et de Wahibéra (28,89%). Ces deux villages ont été les seuls à présenter une variation saisonnière significative (au seuil 5%) des valeurs de prévalences observées. La valeur moyenne de l'hématocrite en cette saison pluvieuse était la plus forte ($26,49\% \pm 0,43$) avec une variation significative entre les autres saisons. Une corrélation significative ($\alpha=0,05$) entre la densité apparente de *Glossina palpalis gambiensis* et le taux d'infection des bovins a été observée en saison pluvieuse.

Des études sur la résistance aux trypanocides ont été réalisées. Elles ont révélé la présence et la suspicion de la résistance à l'isométymidium et au diminazène dans plusieurs

localités. Des analyses statistiques (Khi^2 , Réduction du Risque Relatif, « Ratio d'Eisler ») sur différentes périodes de suivi (28 et 56 jours), ont été effectuées. Ainsi, un protocole de 28 jours a été développé et testé dans 5 sites pour détecter la résistance aux trypanocides. Ce protocole a permis d'évaluer simultanément l'efficacité des traitements aux deux molécules trypanocides (isométabidum et diminazène) dans les zones à faible et à forte prévalences parasitologiques. Une bonne corrélation a été obtenue, d'une part entre les différentes méthodes d'analyses statistiques et d'autre part entre les résultats des suivis longs sur 56 jours et des suivis sur 28 jours, rendant ainsi ces derniers, aptes à détecter des chimiorésistances sur le terrain. Toutefois, la sensibilité de ces méthodes de détection de terrain reste faible dans les zones à faible prévalence parasitologique.

L'analyse par PCR unique pantrypanosomique à l'aide des amorces ITS (Internal Transcribed Spacer) a été réalisée à partir des prélèvements de buffy coat sur du papier filtre. Cette PCR utilisant des amorces polyspécifiques a indiqué des prévalences parasitologiques 1,2 à 6,2 fois supérieures à celles décelées par l'analyse microscopique du buffy coat sur les mêmes échantillons. Cette technique pourrait être mise à profit dans la détection de la chimiorésistance surtout dans les zones à faible prévalence parasitologique.

Mots clés: Trypanosomes, diagnostic, chimiorésistance, isométabidum, diminazène, zone cotonnière, Afrique de l'Ouest.

ABSTRACT

African animal trypanomosis remains one of the major constraints for livestock development in sub-Saharan Africa, especially in the cotton belt of West Africa where livestock provides oxen for agricultural works.

Cross-sectional surveys (2002-2004) were conducted in 89 villages (Mali and Guinea), on 5 474 cattle. These investigations helped to identify several suspected villages which were chosen for longitudinal surveys in order to detect failures of treatments with trypanocidal drugs (isometamidium and diminazene) in cattle.

The spatial analysis of the results showed that parasitological prevalences decrease from the East to the West across the study area. Sikasso-East (Mali) was the most affected area with an average prevalence of 6.3%, against 5% in Sikasso-West (Mali), 2.9% in Bougouni-Yanfolila area (Mali) and 2.8% in Mandiana (Guinea). A clear predominance of *Trypanosoma brucei* infections (59%) was recorded in Mandiana (Guinea). *Glossina palpalis gambiensis* was found all across the study area while, *Glossina tachinoides* was captured only in Mali with an apparent density per trap of 2.74 in Sikasso-East and of 0.64 in Bougouni-Yanfolila area. As for the savannah species, *Glossina morsitans submorsitans*, an apparent density per trap of 0.09 was recorded in Mandiana.

A study on seasonal variations showed some heterogeneity in the evolution of the parasitological prevalences in 11 sites of Sikasso. High prevalences were recorded during the rainy season (August) at Diassadiè (34%) and at Wahibéra (28.89%). Only those two villages presented a significant seasonal variation (threshold 5%) of the observed prevalence values. The mean hematocrit value was higher in the rainy season ($26.49\% \pm 0.43$) with a significant seasonal variation. A significant correlation ($\alpha = 0.05$) between the density of *Glossina palpalis gambiensis* and the rate of infection in cattle was observed during the rainy season.

Studies on trypanocide resistance were also conducted. They revealed the presence or suspicion of the resistance to isometamidium and to diminazene in several localities. Statistical analyses (K χ^2 , Reduction of the Relative Risk, "Ratio of Eisler") for different follow-up durations (28 and 56 days) have been done. In this respect, a 28-day protocol was developed and tested in 5 sites to detect trypanocide resistance. This protocol allowed

to assess simultaneously the efficiency of the treatments with the two most currently used molecules (isometamidium and diminazene) in both low and high challenge areas. A good correlation was obtained, between the results of different statistical methods, on one hand, and between the results of 56-day and 28-day monitorings on the other hand. For these reasons, the latter could be suggested for detection of chemoresistances on the field. However, the sensitivity of these methods remains low in low challenge areas.

Samples were tested using unique “pantrypanosomique” PCR with ITS (Internal Transcribed Spacer) primers. This PCR using polyspecific primers indicated parasitological prevalences of 1.2 to 6.2 times higher than those recorded by the microscopic analysis of the buffy coat on the same samples. This technique could be used in the detection of the chemoresistance especially in the low challenge areas.

Keywords: Trypanosomes, diagnosis, chemoresistance, isometamidium, diminazene, cotton belt, West Africa.

INTRODUCTION GENERALE

En Afrique subsaharienne, les maladies transmises par les mouches tsé-tsé (*Glossina sp.*) constituent un problème majeur à la fois de santé animale et humaine, et de développement agricole. Chez l'homme, la Trypanosomose Humaine Africaine (THA) ou maladie du sommeil est causée par *Trypanosoma brucei*. Autrefois contrôlée, elle est actuellement en recrudescence et sévit sous une forme endémo-épidémique avec une menace quotidienne pour plus de 50 millions de personnes dans plus de 200 foyers (KUZOE, 1991 ; SIDIBE, 1996). Quant à la Trypanosomose Animale Africaine (TAA), elle reste largement répandue. Environ 60 millions de bovins, 100 millions de petits ruminants et autres espèces animales sont menacés sur près de 10 millions de km² dans 37 pays de cette zone de l'Afrique (TRAIL et al., 1985). MORTELMANS (1986) avait estimé à près de 5 milliards de dollars US les pertes annuelles de viande liées à cette maladie. Alors que la population humaine augmente à raison de 3,2 % par an, les productions de viande et de lait n'augmentent respectivement que de 1,4 et 2,3%. De ce fait, on estime pour ce début de millénaire, une importation de 2 à 5 millions de tonnes de viande et de 10 à 15 millions de tonnes de lait pour un coût annuel de 15 milliards de dollars US pour couvrir les besoins des populations de cette partie de l'Afrique (PANGUI, 2001). La productivité de nos animaux reste faible, en partie, à cause de la trypanosomose animale africaine qui est l'une des plus importantes contraintes au niveau pathologique (SWALLOW, 2000). Les glossines ou mouches tsé-tsé, qui en sont les principaux vecteurs, occupent généralement les meilleures terres de l'Afrique de l'Ouest, notamment les zones humides (DIALLO, 2001).

La prévention contre ce fléau est difficile, car aucun vaccin n'est en vue, à cause de la grande variabilité antigénique des trypanosomes parasites. A l'étape actuelle des connaissances, les stratégies de lutte contre les trypanosomoses animales consistent à agir soit sur le vecteur, soit sur la résistance naturelle de certaines races d'animaux en y associant la gestion des parcours afin d'éviter le contact avec les glossines, soit sur l'agent causal par l'utilisation des trypanocides.

Au Mali, les zones concernées par la trypanosomose animale africaine occupent 17% du territoire national avec près de 2 857 500 têtes de bovins exposées,

représentant 45 % de la population bovine du pays (DIAL, 2001). Comme dans tous les pays africains infestés par la mouche tsé-tsé, au Mali, la chimiothérapie constitue le moyen le plus utilisé dans la lutte contre la trypanosomose animale africaine. Cependant, cette chimiothérapie s'appuie sur des molécules anciennes et en nombre réduit (GEERTS et HOLMES, 1998) dont l'utilisation répétée et parfois anormale, a conduit dans certaines régions à l'émergence de la chimiorésistance des trypanosomes (EISLER et *al.*, 2000a).

Au Burkina Faso, et plus particulièrement dans la province du Kéné Dougou, la résistance aux trypanocides a pu être identifiée dans la zone pastorale de Samorogouan (PINDER et AUTHIE, 1984 ; CLAUSEN et *al.*, 1992) puis dans d'autres localités dans le cadre des activités de la première phase du projet BMZ (McDERMOTT et *al.*, 2000 ; DIARRA, 2001 ; OUEDRAOGO, 2002). Par contre, la situation épidémiologique de ce phénomène restait peu ou pas du tout connue dans le reste de la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest, et méritait d'être mieux cernée par d'autres études.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui avait pour objectif global de connaître la situation épidémiologique de la TAA en relation avec la chimiorésistance dans le reste de la ceinture cotonnière de l'Afrique de l'Ouest et de contribuer au développement des méthodes de diagnostic de terrain de la chimiorésistance.

En termes d'objectifs spécifiques, il s'agit de :

- caractériser la distribution des trypanosomoses animales dans la zone cotonnière ouest africaine ;
- identifier les facteurs de risque des trypanosomoses animales en liaison avec la chimiorésistance dans cette zone ;
- développer et valider des outils de diagnostic de la chimiorésistance sur le terrain.

Ce travail que nous rapportons ici comporte deux grandes parties:

- ✍ Une revue bibliographique sur les trypanosomoses animales africaines ;
- ✍ Une partie expérimentale composée de cinq chapitres :
 - Cadre de l'étude ;
 - Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée) ;
 - Variations saisonnières et facteurs de risque des trypanosomoses animales dans un contexte de chimiorésistance dans la zone de Sikasso au Mali ;
 - Méthode de diagnostic rapide de la résistance des trypanosomes à l'isomémidium et au diminazène sur le terrain ;
 - Contribution à l'amélioration de la sensibilité des méthodes de terrain pour la détection de la chimiorésistance à l'aide des prélèvements sur du papier filtre et de la PCR avec des amorces ITS (Internal Transcribed Spacer).

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE :
Epidémiologie des trypanosomoses
animales et les phénomènes de
chimiorésistance

GENERALITES SUR LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES

1- Données générales sur les trypanosomoses animales africaines

1.1- Définition et répartition géographique

D'une façon générale, les trypanosomoses sont des maladies infectieuses, inoculables, désignant un groupe de maladies dues à la présence et à la multiplication dans le sang et dans divers tissus ou liquides organiques d'animaux, de protozoaires du genre *Trypanosoma*. Ces protozoaires se rencontrent chez de nombreuses espèces animales, mais ils semblent n'être pathogènes que pour les mammifères, y compris l'homme. L'évolution de ces maladies, fonction de l'espèce de parasite, varie d'une forme aiguë à une forme chronique ; de durée et de symptomatologie variables en fonction de l'espèce animale affectée et de l'agent pathogène en cause (ITARD, 2000). Ainsi, on distingue :

- la Nagana qui regroupe des affections dues aux trypanosomes « animaux » typiquement africains (*Trypanosoma congolense*, *T. brucei*, *T. vivax*, *T. simiae*, *T. suis*), qui sont tous transmis cycliquement par les glossines. Ce nom désignait à l'origine, une affection probablement due à *T. brucei* qui sévissait chez les animaux domestiques au Zoulouland et dont l'étiologie fut élucidée en 1895 par Bruce ;
- le Surra ou trypanosomose des camelidés, des équidés et parfois des bovidés, due à *T. evansi*, qui est transmis par des insectes piqueurs autres que les glossines ;
- la Dourine ou trypanosomose vénérienne des équidés causée par *T. equiperdum* ;
- la « maladie du sommeil » encore appelée Trypanosomose Humaine Africaine (THA) due à *T. brucei gambiense* ou à *T. brucei rhodesiense* ;
- et la « maladie de Chagas » ou trypanosomose humaine américaine causée par *T. cruzi* et dont le vecteur est un rédouve.

Ces trypanosomoses sévissent principalement dans les régions tropicales et intertropicales d'Afrique, d'Amérique du Sud et d'Asie (EUZEBY, 1986).

En Afrique, les trypanosomoses sont transmises par divers insectes hématophages dont les plus importants sont les glossines ou mouche tsé-tsé, insectes exclusivement africains, qui constituent l'hôte intermédiaire des espèces parasites. Ces glossines qui en sont les principaux vecteurs occupent une superficie de près de 10 millions de kilomètres carrés, soit un tiers du continent africain, s'étendant de part et d'autre de l'équateur et située entre 15° de latitude nord et 20° de latitude sud (figure 1) où elles revêtent une importance primordiale dans l'épidémiologie de ces maladies.

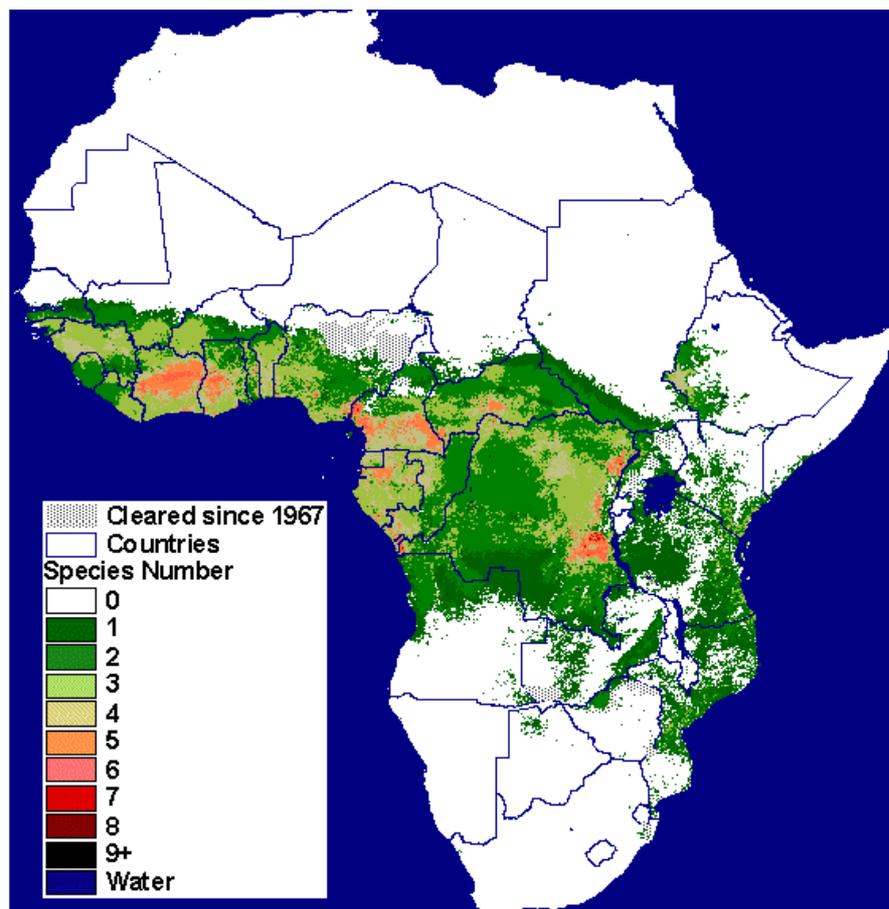


Figure 1 : Carte de répartition des glossines

Source : DFID/AHP, 2005

1.2- Importance socio-économique

Les trypanosomoses animales africaines transmises par les glossines ne sévissent qu'en Afrique au sud du Sahara. Elles affectent 37 pays situés dans les régions potentiellement les plus productives d'Afrique dont 7 millions de km² de savane humide. Dans ces régions, les incidences médicales et socio-économiques sont très graves faisant ainsi des trypanosomoses animales une contrainte majeure de l'élevage.

Les pertes directes liées à ces trypanosomoses animales sont représentées par la mortalité des animaux, la baisse de la productivité (viande et lait) et les perturbations de la reproduction (CHICOTEAU et *al.*, 1990 ; BOLY et *al.*, 1991). Ces pertes sont estimées à 3 millions de têtes de bétail mort par an, une perte de 26% du rendement laitier et une réduction de 50% du nombre de troupeaux dans les zones à haute potentialité agricole (HURSEY et SLINGENBERGH, 1997; CODJIA et DE LA ROCQUE, 2001). Les mortalités ne sont pas trop fréquentes chez les races locales, alors qu'elles peuvent prendre des proportions importantes chez les races exotiques trypanosensibles.

Les conséquences indirectes de ces trypanosomoses sont considérables. Ces dernières conduisent à :

- la limitation de l'introduction du bétail exotique plus performant mais plus sensible à la maladie, ceci dans le cadre d'une amélioration génétique des races locales ;
- l'abandon des zones de pâturage infestées par les glossines. En effet, fuyant les zones infestées par les glossines, l'élevage tend à se concentrer dans les zones semi-arides aux ressources fourragères limitées, entraînant la dégradation progressive des pâturages ;
- la réduction du rendement agricole des animaux. En effet, l'utilisation des animaux pour l'agriculture (engrais, traction) est également affectée ;

- l'importation massive des viandes, des produits laitiers et des trypanocides aggravant ainsi le déficit de la balance commerciale ;
- le coût des mesures de lutte (traitements trypanocides).

Le déficit annuel de productivité représente plus de 1,03 millions de tonnes d'équivalent- viande et 1,6 millions de tonne de lait. Les projections économiques prédisent que le cheptel bovin, en l'absence de glossine, pourrait être accru de 33 millions de têtes supplémentaires (CIPEA, 1988 ; SIDIBE et DESQUESNES, 2003).

1.3- Agents pathogènes : les trypanosomes

1.3.1- Définition

Les trypanosomes sont des organismes unicellulaires, microscopiques, de forme allongée, dont la locomotion est assurée par un seul flagelle dirigé vers l'avant, près de la base duquel se trouve une structure particulière, le kinétoplaste. Ce sont des parasites obligatoires ayant le plus souvent deux hôtes :

- un hôte vertébré, chez qui ils se multiplient dans les liquides physiologiques, le sang en particulier ;
- un hôte invertébré, généralement un insecte piqueur, où ils vivent dans le tractus digestif.

1.3.2- Taxonomie

Les trypanosomes sont des procaryotes appartenant à l'ordre des *Kinetoplastida*, à la famille des *Trypanosomatidae* et au genre *Trypanosoma*. Le genre *Trypanosoma* comporte huit sous-genres regroupés en deux sections (figure 2). Selon que les formes infestantes des trypanosomes se développent dans les glandes salivaires du vecteur et transmises par piqûre à un nouvel hôte ou qu'elles se développent dans le tube digestif du vecteur, rejetées avec les fèces puis pénètrent dans la peau ou les muqueuses d'un nouvel hôte, on parlera respectivement de *Salivaria* et de *Stercoraria*.

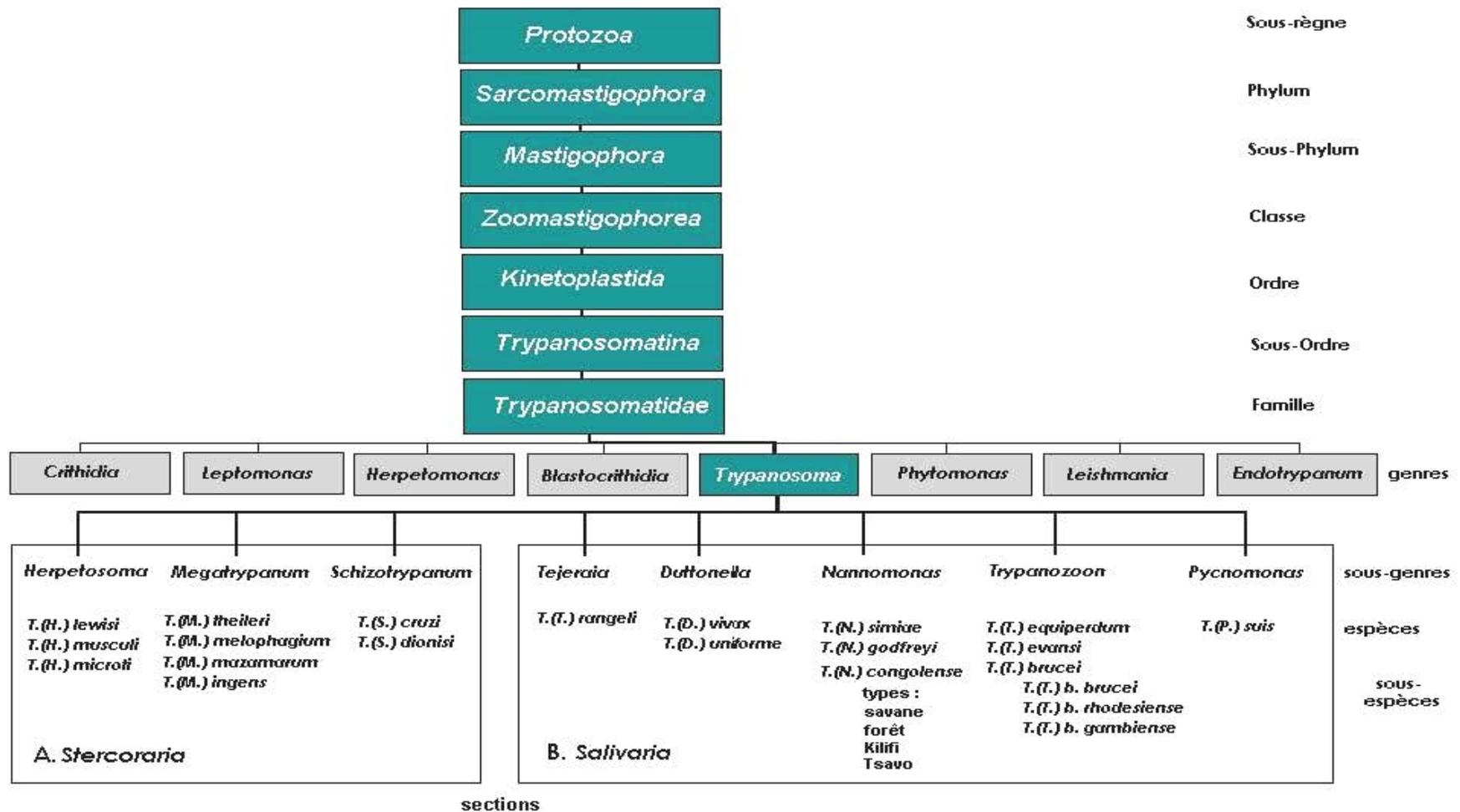


Figure 2 : Taxonomie des trypanosomes de mammifères

Source : SIDIBE et DESQUESNES, 2003

La section des *Stercoraria* comporte les trypanosomes à évolution postérograde chez le vecteur. Leur transmission chez l'hôte vertébré s'effectue par déjection contaminante du vecteur.

La section des *Salivaria* comporte les trypanosomes à développement antérograde chez le vecteur. La transmission est effectuée par inoculation, lorsque le vecteur injecte sa salive au moment de la piqûre qui précède immédiatement la prise d'un repas sanguin.

Les trypanosomes pathogènes du bétail présents en Afrique sont de la section des *Salivaria*, des sous-genres *Nannomonas* pour *T. congolense*, *Duttonella* pour *T. vivax*, *Trypanozoon* pour *T. brucei*, *T. evansi* et *T. equiperdum*, et *Pycnomonas* pour *T. suis*. Toutefois, il existe des trypanosomes peu ou pas pathogènes pour le bétail qui peuvent interférer dans le diagnostic des trypanosomoses du bétail. C'est le cas de *Megatrypanum spp.* qui appartient à la section des *Stercoraria*, ainsi que certains trypanosomes dont l'importance épidémiologique et la pathogénicité sont encore mal déterminées (SIDIBE et DESQUESNES, 2003). Les bovins peuvent être infectés par trois espèces pathogènes: *T. congolense* (BRODEN, 1904), *T. brucei* (notamment la sous-espèce *T. brucei brucei*) (PLIMMER et BRADFORD, 1899), *T. vivax* (ZIEMANN, 1905), et une espèce non pathogène *T. theileri* (LAVERAN, 1902). Les deux premières espèces sont transmises essentiellement par les mouches tsé-tsé, qui en sont les vecteurs biologiques. *T. vivax* est généralement transmis par les glossines, mais peut l'être également par des vecteurs mécaniques (Stomoxynés, Tabanidés, Hippoboscidés). *T. theileri*, est une espèce cosmopolite, non pathogène, et transmissible de façon mécanique par des insectes hématophages.

En culture dans un milieu axénique ou *in vivo* chez la souris, *T. brucei*, de façon générale, s'adapte facilement et peut se multiplier. C'est pour cette raison qu'il est le plus étudié des trypanosomes (BALTZ et al., 1985 ; DUSZENKO et al., 1985). *T. brucei brucei*, n'infecte pas l'homme mais parasite les animaux domestiques dans toute l'Afrique. Quant à *T. brucei gambiense* qui est l'agent de la maladie du sommeil chez l'homme en Afrique de l'Ouest et du Centre, il pourrait être

responsable d'anthropozoonoses, car pouvant aussi infecter des animaux domestiques, qui seraient susceptibles de jouer le rôle de réservoir (MEHLITZ, 1986). A la différence de *T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense* est responsable de zoonose car pouvant aussi être infectieux dans l'espèce bovine en provoquant un syndrome de gravité allant de l'infection inapparente à une méningo-encéphalite comparable à celle observée dans la maladie du sommeil humaine (WELLDE et al., 1989). *T. vivax* fréquent chez les bovins, est en Afrique centrale et occidentale, généralement moins pathogène que *T. congolense* (TOURE et al., 1978 ; TRAIL et al., 1991). Des formes extra-vasculaires, de morphologie parfois différentes des formes sanguines, sont décrites occasionnellement pour *T. vivax* (WHITELAW et al., 1988). C'est ainsi qu'il a été retrouvé dans le myocarde, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse (GARDINER, 1989). Quant à *T. congolense*, de par sa fréquence, sa pathogénicité et ses conséquences sur la productivité, il est probablement le trypanosome africain ayant la plus grande incidence économique, car il affecte de nombreuses espèces animales.

1.3.3- Morphologie et structure

Le trypanosome comme tout protozoaire est formé d'une cellule unique qui constitue un organisme autonome. La forme classique est celle d'une cellule fusiforme et aplatie, avec une membrane ondulante plus ou moins enroulée autour du corps et prolongée vers l'avant par un flagelle libre. Cependant, cette forme varie d'une espèce du parasite à une autre, mais aussi au cours du cycle évolutif. Au microscope ordinaire, le trypanosome présente une masse de cytoplasme qui contient des organites en enclaves variés, ainsi qu'un noyau. La périphérie de cette masse cytoplasmique est limitée par une paroi cellulaire. L'ultrastructure des trypanosomes (figure 3) montre :

- la paroi cellulaire ou périplaste, formée d'une membrane de 8 à 10 nm d'épaisseur et d'une couche de fibres microtubulaires. La membrane est constituée de trois couches dont l'externe est très riche en glycoprotéine. C'est l'antigène de surface du trypanosome ;

- le flagelle formé d'une courte portion proximale, le blépharoplaste ou kinétosome, d'une zone de transition et du flagelle proprement dit ;
- le noyau constitué d'une membrane nucléaire formée de deux feuillets accolés, percés de nombreux pores. Il contient de l'ADN ;
- le système mitochondrial et un kinétoplaste ;
- l'appareil vacuolaire riche en divers organites tels que le réticulum endoplasmique, le lysosome et l'appareil de Golgi. Le cytoplasme contient également des structures mal identifiées, en particulier des grains de volutine et des gouttelettes lipidiques.

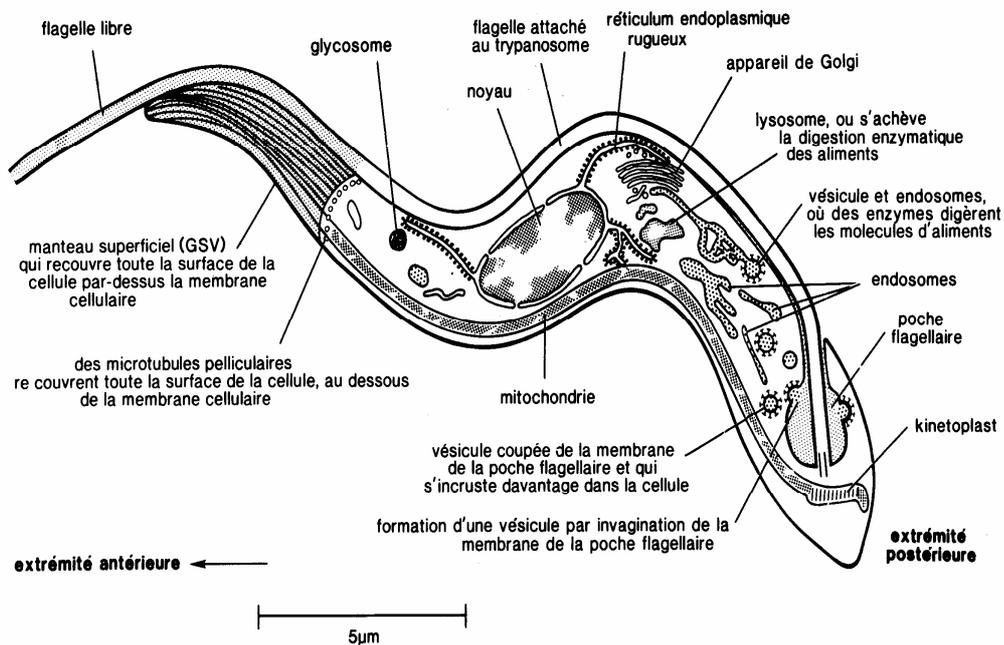


Figure 3 : Ultrastructure des trypanosomes
(VICKERMAN et *al.*, 1988)

1.3.4- Biologie des trypanosomes

1.3.4.1- Nutrition – Respiration – Excrétion

Les trypanosomes ne possèdent pas d'organes de nutrition spécialisés comparables au tube digestif des animaux pluricellulaires. Ils sont adaptés à une existence dans les liquides organiques de l'hôte où ils absorbent l'aliment nécessaire qui y est présent, à travers leur enveloppe cellulaire. Ils digèrent les protéines, les glucides et les lipides au moyen des systèmes enzymatiques de leur protoplasme. De même, l'oxygène dissous dans les liquides tissulaires ou le plasma sanguin est absorbé afin que soit libérée l'énergie indispensable à la vie. Les déchets sont éliminés par un processus inverse. Ils sont libérés à travers l'enveloppe cellulaire dans les liquides organiques ou le plasma sanguin de l'hôte ou de l'insecte vecteur. Le gaz carbonique qui se forme pendant la respiration et d'autres sous-produits plus complexes du métabolisme, sont ainsi évacués.

1.3.4.2- Mode de multiplication

Les trypanosomes se reproduisent par division asexuée. Il s'agit d'une fission binaire longitudinale. Cette division débute par la formation d'un nouveau flagelle à proximité de l'ancien, se poursuit par bipartition du kinétoplaste, puis du noyau pour s'achever par la fission longitudinale du cytoplasme, donnant ainsi des trypanosomes distincts sous formes trypomastigotes. Cette multiplication est favorisée par des polyamines (putrescine, cadaverine, spermidine) fixées sur les ribosomes et le kinétoplaste des parasites.

1.3.4.3- Cycle de développement

Le cycle de développement des trypanosomes (figure 4) est très complexe car il implique une série de transformations cellulaires à l'intérieur de l'agent vecteur (glossine) et de l'hôte mammifère.

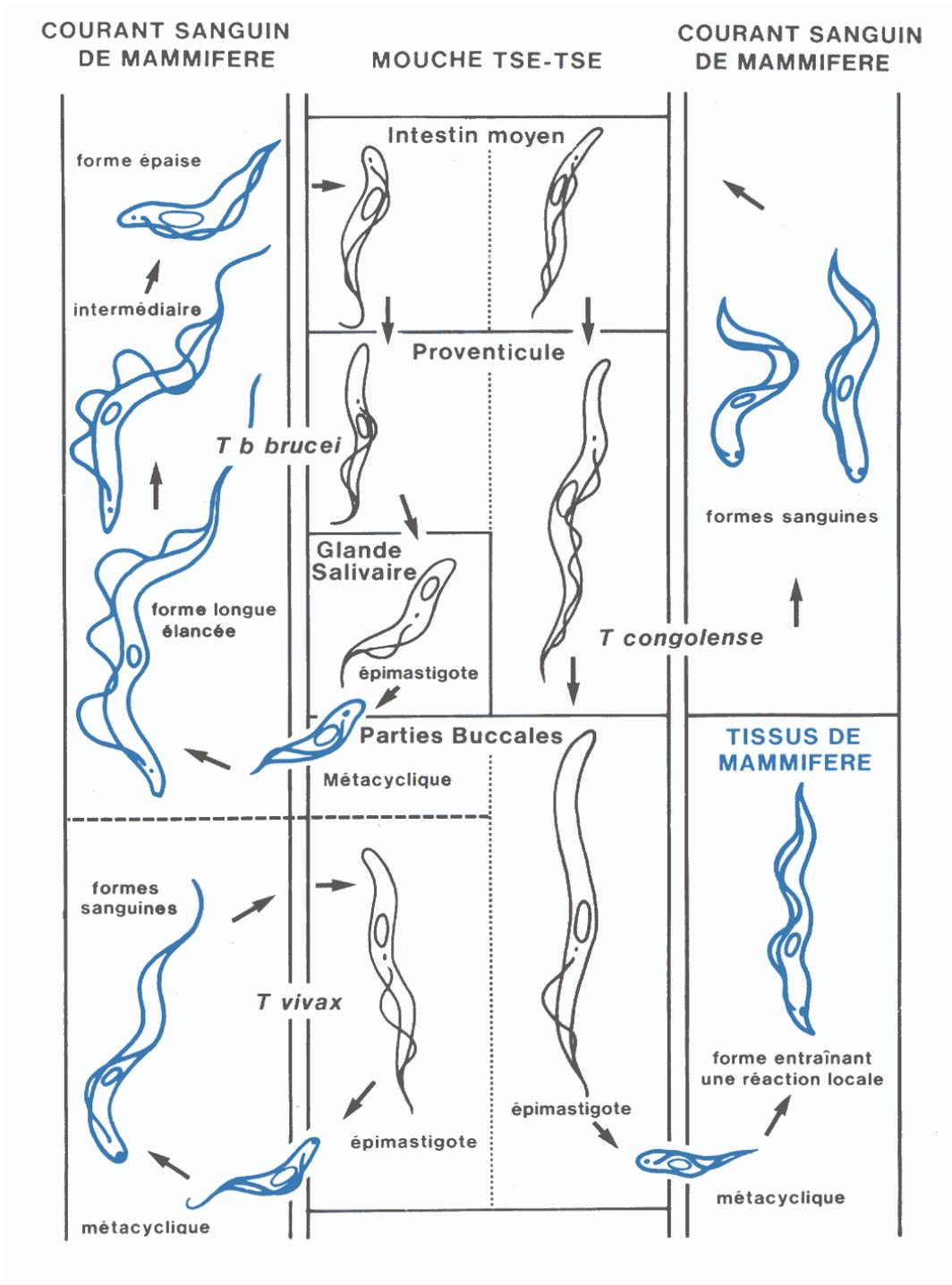


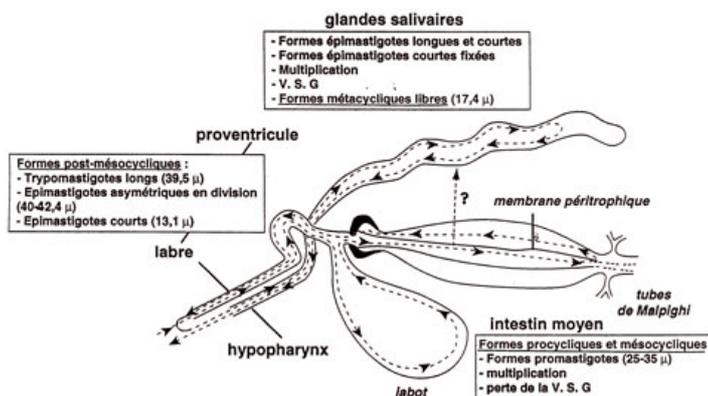
Figure 4 : Cycle évolutif des trypanosomes
(ILRAD, 1989)

1.3.4.3.1- Chez le vecteur

Lors de la prise d'un repas sanguin sur un animal parasitémique, les trypanosomes sont ingérés par la glossine. Chez celle-ci, les trypanosomes (trypomastigotes) ingurgités commencent à s'allonger dans l'intestin moyen et puis dans l'espace endopéritrophique et deviennent des formes trypomastigotes procycliques. Celles-ci perdent leur manteau antigénique de surface (membrane de glycoprotéines) et deviennent ainsi non infectieuses. Elles subissent une multiplication très active vers le 3^{ème} - 4^{ème} jour pour *T. brucei* et vers le 10^{ème} jour pour *T. congolense*, et se maintiennent environ 2 mois. Les formes procycliques de *T. congolense* passent ensuite dans l'espace ectopéritrophique, puis gagnent l'œsophage, le pharynx, et enfin le canal alimentaire. Elles se fixent sur les parois du labre et se transforment en épimastigotes. Ces formes pénètrent dans l'hypopharynx, se transforment en métatrypanosomes (métacycliques) infectants revêtus de la glycoprotéine de surface. Pour *T. vivax* la totalité du cycle se déroule dans le proboscis (labre et hypopharynx). Cependant, le proboscis ne semble pas être le seul organe de la glossine dans lequel les parasites peuvent se développer. En effet, certains auteurs ont mis en évidence la présence de *T. vivax* dans le proboscis, dans l'intestin et dans la région oesophagienne des glossines. La figure 5 illustre la localisation des sites de multiplication et de fixation des trypanosomes chez la glossine.

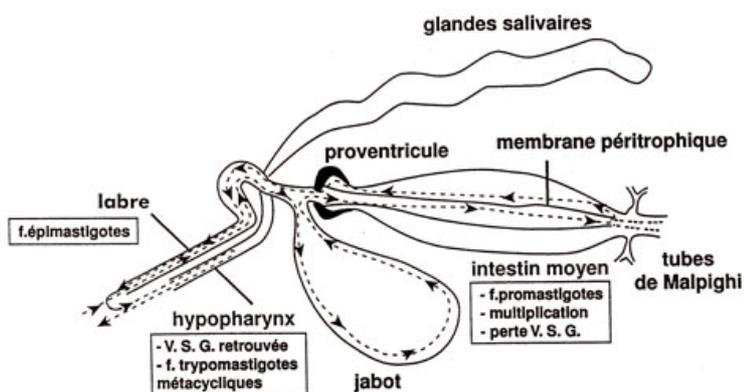
La durée moyenne du cycle de développement chez la glossine est d'environ 30 jours pour *T. brucei* alors qu'elle est d'environ 18 jours pour *T. congolense* et de 14 jours pour *T. vivax*.

CYCLE DANS LA TSÉ-TSÉ DE *T. BRUCEI*



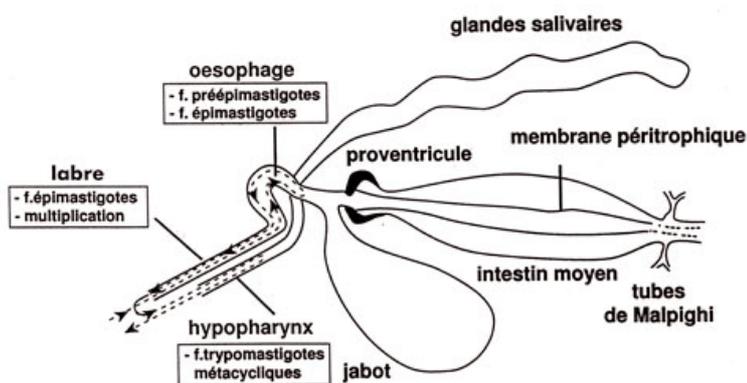
D. CUISANCE
CIRAD-EMVT

CYCLE DANS LA TSÉ-TSÉ DE *T. CONGOLENSE*



D. CUISANCE
CIRAD-EMVT

CYCLE DANS LA TSÉ-TSÉ DE *T. VIVAX*



D. CUISANCE
CIRAD-EMVT

Figure 5: Localisation des trois principales espèces de trypanosomes pathogènes chez la glossine

1.3.4.3.2- Chez l'hôte mammifère

A l'occasion d'un repas sanguin de la glossine, les formes métacycliques infectieuses présentes dans les pièces buccales de celle-ci sont injectées dans le derme de l'hôte mammifère. Ces formes métacycliques se multiplient au point d'inoculation pendant plusieurs jours déterminant parfois une réaction inflammatoire locale appelée chancre. Par voie lymphatique, les trypanosomes migrent vers le ganglion de drainage et sont détectables dans la lymphe afférente de ce ganglion quelques jours avant leur détection dans le sang (EMERY et *al.*, 1980 ; AKOL et MURRAY, 1986 ; cités par SIDIBE et DESQUENES, 2003). En fonction de l'espèce, de la souche de trypanosome, du nombre de trypanosomes injectés et de l'état immunitaire de l'hôte, la durée de la période prépatente (de l'inoculation à la détection du parasite dans le sang) varie généralement de 1 à 3 semaines (CLAUSEN et *al.*, 1993). Les trypanosomes évoluent dans le sang par « vagues parasitémiques » correspondant à des phénomènes « d'échappement » aux défenses immunitaires de l'hôte. Ces phénomènes d'échappement sont contrôlés par la glycoprotéine variante de surface (VSG) recouvrant le trypanosome et son flagelle (VICKERMAN et LUCKINS, 1969 ; VICKERMAN, 1978). Elle est constituée d'environ 10^7 molécules identiques d'un poids moléculaire d'environ 60kDa et représente 10% des protéines totales du trypanosome. Les VSGs de *T. congolense* (ROVIS et *al.*, 1978) et de *T. vivax* (GARDINER et *al.*, 1987) sont de taille légèrement plus petites.

1.4- Vecteurs

1.4-1- Espèces et sous-espèces de glossines

Les glossines ou mouches tsé-tsé sont des insectes diptères cyclorhaphes rattachés à la seule famille des Glossinidés et au seul genre *Glossina* (du grec « langue », en référence aux pièces buccales de forme allongée). Les 31 espèces et sous-espèces décrites sont réparties en trois sous-genres ou groupes en fonction de leurs particularités morphologiques et bio-écologiques (tableau I):

- le groupe *palpalis* (sous-genre *Nemorrhina*) ;
- le groupe *morsitans* (sous-genre *Glossina*) ;
- le groupe *fusca* (sous-genre *Austenina*).

Tableau I: Espèces et sous espèces de glossines (par sous-genre ou groupe)

<i>Nemorrhina (Palpalis)</i>	<i>Austenina (Fusca)</i>	<i>Glossina (Morsitans)</i>
- <i>G. caliginea</i> Austen, 1911	- <i>G. brevipalpis</i> Newstead, 1910	- <i>G. austeni</i> Newstead, 1912
- <i>G. fuscipes fuscipes</i> Newstead, 1910	- <i>G. frezili</i> Gouteux, 1988	- <i>G. longipalpis</i> Wiedemann, 1830
- <i>G. fuscipes martinii</i> Zumpt, 1935	- <i>G. fusca congolensis</i> Newstead & Evans, 1921	- <i>G. morsitans centralis</i> Machado, 1970
- <i>G. fuscipes quanzensis</i> Pires, 1948	- <i>G. fusca fusca</i> Walker, 1849	- <i>G. morsitans morsitans</i> Westwood, 1850
- <i>G. pallicera newsteadi</i> Austen, 1929	- <i>G. fuscipleuris</i> Austen, 1911	- <i>G. morsitans submorsitans</i> Newstead 1910
- <i>G. pallicera pallicera</i> Bigot, 1891	- <i>G. haningtoni</i> Newstead & Evans, 1922	- <i>G. pallidipes</i> Austen, 1903
- <i>G. palpalis gambiensis</i> Vanderplank, 1949	- <i>G. longipennis</i> Corti, 1895	- <i>G. swynnertoni</i> Austen, 1923
- <i>G. palpalis palpalis</i> Robineau-Desvoidy, 1830	- <i>G. medicorum</i> Austen, 1911	
- <i>G. tachinoides</i> Westwood, 1850	- <i>G. nashi</i> Potts, 1955	
	- <i>G. nigrofusca hopkinsi</i> Van Emdem, 1944	
	- <i>G. nigrofusca nigrofusca</i> Newstead, 1910	
	- <i>G. schwetzi</i> Newstead & Evans, 1921	
	- <i>G. severini</i> Newstead, 1913	
	- <i>G. tabaniformis</i> Westwood, 1850	
	- <i>G. vanhoofi</i> Henrard, 1952	

Source: CIRAD, 2004

1.4.2- Morphologie externe de la glossine

De silhouette allongée, d'aspect robuste, de couleur généralement brun noirâtre à brun clair, les mouches tsé-tsé ne présentent jamais de couleurs métalliques. La longueur de leur corps varie de 6 à 16 mm (ITARD, 1986 ; CIRAD, 2004). Les mâles sont généralement plus petits que les femelles. Le poids des adultes est fonction de l'espèce : les plus légers, de 7 à 14 mg, se rencontrent chez *Glossina tachinoides*, les plus lourds, de 50 à 80mg, chez *Glossina brevipalpis*. Les adultes des espèces d'intérêt médical et vétérinaire comme *G. fuscipes* et *G. morsitans* ont un poids intermédiaire qui varie de 20 à 25 mg (CIRAD, 2004). La morphologie générale est celle de la mouche (figure 6). Le corps est subdivisé en trois parties qui sont :

- la tête qui porte les organes de la vue avec deux yeux composés situés latéralement et trois ocelles disposés en triangle au sommet ; deux antennes équipées de récepteurs sensoriels qui renseignent la mouche sur son environnement ; et un appareil piqueur constitué de trois pièces buccales (une lèvre inférieure ou labium, un hypopharynx et une lèvre supérieure ou labre). Il forme une trompe, longue et fine, appelée proboscis, qui est dirigée horizontalement vers l'avant au repos et encadrée par deux palpes maxillaires ;
- le thorax qui porte à sa face inférieure les trois paires de pattes, et à son sommet une paire d'ailes. Ces ailes, au repos sont croisées sur le dos de l'abdomen, ce qui donne une forme mince à la glossine. En outre, le thorax porte à la base des ailes deux haltères ou balanciers qui permettent le maintien en équilibre de la mouche lors du vol (POLLOCK, 2000). Les ailes membraneuses sont soutenues par des nervures qui forment un réseau assez simple délimitant une cellule en forme de hache caractéristique du genre *Glossina* ;
- l'abdomen est composé de huit segments dont sept sont visibles. Chaque segment porte un tergite dorsal rigide et un sternite ventral souple qui peut s'étirer pour permettre à la mouche de recevoir une quantité importante de sang et dans le cas de la femelle de grosses larves. Une paire de stigmates respiratoires située sur chaque segment permet l'entrée de l'oxygène à l'intérieur

du corps par les trachées. L'abdomen se termine par les génitalias qui sont les éléments reproducteurs externes du mâle et de la femelle dont la forme et la dimension couplées à la coloration de l'abdomen constituent une base de la systématique.

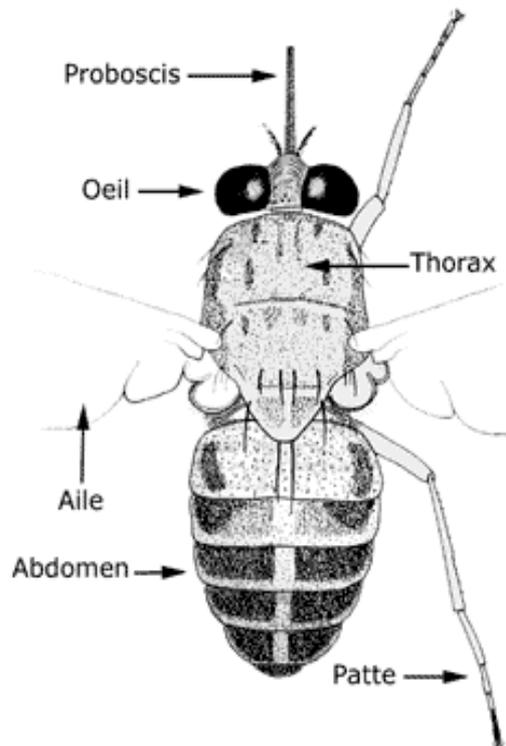


Figure 6: Morphologie générale d'une glossine
(LAVEISSIERE *et al.*, 2000)

1.4.3- Appareil digestif de la glossine

L'appareil digestif de la glossine est adapté à la consommation et à la digestion du sang qui constitue son unique nourriture. Le tube digestif débute au niveau des pièces buccales par le canal alimentaire (association du labium et du labre) et se prolonge dans la tête par le pharynx. L'œsophage pénètre dans le cou et dans le thorax avant de s'ouvrir sur le proventricule. Le jabot placé dans la partie antérieure

de l'abdomen est considéré comme un diverticule de l'œsophage. Les intestins moyen et postérieur forment de nombreuses circonvolutions pour se terminer à l'anus. Deux glandes salivaires de 15 mm de long, enroulées sur elles-mêmes, sont localisées dans la cavité abdominale. Elles sont reliées aux pièces buccales par deux canaux qui traversent le thorax (figure 7).

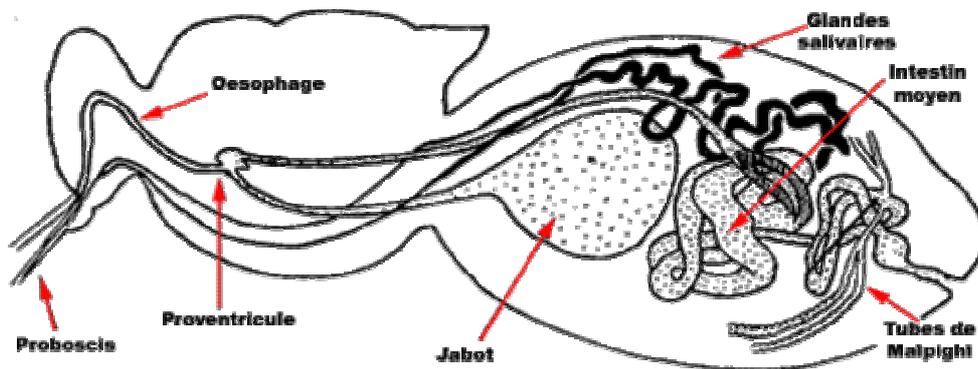


Figure 7: Appareil digestif d'une glossine
(LAVEISSIERE *et al.*, 2000)

Le proventricule est un muscle sphincter qui se trouve à l'intersection de l'œsophage, du canal du jabot et de l'intestin. Il assure la régulation du transit entre ces trois voies de circulation et fabrique de façon continue la membrane péritrophique, long manchon chitineux qui enveloppe le sang sur toute la longueur de l'intestin moyen au cours de la digestion et joue un rôle important dans le développement des trypanosomes.

1.4.4- Appareil excréteur de la glossine

Quatre tubes de Malpighi de couleur jaunâtre, réunis par paire sur un canal inséré à la limite entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur, ont pour rôle d'éliminer les déchets du métabolisme et d'évacuer l'excédent résultant de la digestion du sang.

En dehors de ces appareils, comme tous les insectes, les glossines disposent d'un appareil circulatoire, d'un appareil reproducteur, d'un système respiratoire et d'un système nerveux.

1.5- Etude clinique des trypanosomoses animales africaines

Les trypanosomoses « typiques » sont des affections chroniques qui conduisent à une détérioration progressive de l'état général du sujet atteint. Elles rappellent à certains égards le paludisme chez l'homme, d'où les appellations de « Sumaya bana » en Bambara ou Dioula, de « buubal » ou « daaso » en langue Peulh. Tous ces mots veulent dire « lassitude générale », symptôme généralement observé chez les paludéens (DIALLO, 1997). Dans son évolution on peut distinguer deux phases :

- une phase fébrile ou phase aiguë caractérisée par l'abattement de l'animal, de la fièvre, des poils piqués et des larmolements ;
- une phase de dégradation de l'état général ou phase chronique caractérisée par l'amaigrissement du sujet malade qui présente une robe terne, de l'anémie, de l'adénomégalie et une dépravation du goût (pica) conduisant l'animal à manger la terre.

1.5.1- Pathogénie

Dans les trypanosomoses bovines, le mécanisme de la mort des animaux dépendrait de trois facteurs essentiels : l'anémie, les lésions tissulaires et une action immunodépressive (URQUHART, 1988).

1.5.1.1- Anémie

L'anémie se définit comme une baisse du taux d'hémoglobine dans le sang, qui se traduit le plus souvent par une baisse du nombre de globules rouges. Dans le cas des trypanosomoses, on pense à une hémolyse provoquée par les trypanosomes ou alors à la destruction des globules rouges par une réaction immunologique dans le système réticulo-endothélial. Le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite subissent une chute rapide au cours de l'infection, de façon presque

concomitante à l'apparition des trypanosomes dans le sang. L'anémie s'établit en deux ou trois phases (DARGIE et *al.* 1979 ; AUTHIE, 2000) : une anémie hémolytique corrélative à l'apparition de la parasitémie ; puis une phase anémique chronique qui débute à la sixième ou septième semaine après l'infection quand la parasitémie commence à baisser ; et enfin une phase au cours de laquelle le taux de globules rouges reste constant et inférieur à la normale.

1.5.1.2- Lésions tissulaires

Les lésions tissulaires sont multiples et variées. D'une façon générale, il y a une fonte musculaire et une fonte adipeuse. Les lésions locales sont les suivantes :

- une myocardite et une myosite. Leurs causes sont mal connues.
- une congestion des poumons avec des taches hémorragiques ;
- une hypertrophie du foie qui devient de coloration jaune pâle, friable et parfois avec une congestion au niveau du lobe apical (N'DO, 2006) ;
- une hypertrophie et une congestion de la rate ;
- une congestion des reins avec parfois des taches hémorragiques même jusqu'au niveau de la zone médullaire ;
- une congestion cérébrale.

1.5.1.3- Immunodépression

Il est désormais admis que l'immunodépression est un facteur non négligeable dans les trypanosomoses animales (BOYT, 1986 ; AUTHIE, 2000). Cet état d'immunodépression est responsable d'une plus grande sensibilité des animaux aux affections intercurrentes (par exemple : peste bovine, péripneumonie, babésioses, anaplasmoses) et de réactions post-vaccinales graves.

1.5.2- Diagnostic

1.5.2.1- Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique des trypanosomoses animales africaines est souvent aléatoire car les symptômes n'ont rien de spécifiques et peuvent évoquer n'importe quelle parasitose ou maladie infectieuse. De ce fait, le diagnostic de certitude consiste à la mise en évidence de la présence du parasite (DESQUESNES et *al.*, 2003).

1.5.2.2- Examens parasitologiques

1.5.2.2.1- Prélèvements et conservation

Le diagnostic peut porter sur un prélèvement de sang, de ganglion lymphatique, sur un calque d'organe, et peut être réalisé selon les cas, à l'état frais, ou sur du matériel biologique fixé ou ayant été congelé. Les prélèvements sanguins doivent être conservés au frais avant leur traitement ou à sec dans le cas des prélèvements sur du papier filtre.

1.5.2.2.2- Examens microscopiques directs

- Observation directe

Il s'agit de l'examen direct de sang frais, de suc ganglionnaire entre lame et lamelle au microscope à contraste de phase. Il permet parfois de faire l'identification du parasite en se basant sur la taille, la morphologie et la motilité des trypanosomes (ITARD, 1981). Une technique de comptage direct a été décrite pour une estimation rapide de la parasitémie lors des suivis d'infections expérimentales mais, sa sensibilité est très faible.

- Observation après coloration

Il s'agit d'une observation microscopique (x1000) d'un frottis fixé au méthanol et coloré avec du May-Grünwald-Giemsa pour l'identification des trypanosomes. L'examen de frottis est relativement spécifique mais sa sensibilité est très faible de l'ordre de 10^4 - 10^5 parasites/ml. L'examen d'une goutte épaisse partiellement étalée

sur une lame à l'aide du coin d'une autre lame est une variante de celui du frottis qui ne requiert pas de fixation au méthanol (pour permettre la lyse des hématies), mais une simple coloration avec du May-Grünwald-Giemsa.

1.5.2.2.3- Examens microscopiques après concentration

Lorsque la parasitémie est faible, la concentration des trypanosomes facilite leur recherche. Elle est obtenue soit par une centrifugation d'un volume donné de sang total, soit après séparation par filtration des trypanosomes, soit après la lyse des hématies.

La méthode la plus couramment utilisée est la centrifugation différentielle de sang sous anticoagulant pendant 5 minutes à 12 000 tours/minute dans un tube à hématocrite (Haematocrit Centrifuge Technique, HCT) (WOO, 1970). Après centrifugation, les trypanosomes se retrouvent à l'interface globules blancs/plasma. L'observation se fait directement dans le tube sous un microscope à contraste de phase. TORO et *al.* (1987) trouvent que cette technique de centrifugation hématocrite est 4 fois plus sensible que l'examen direct de sang et 2,5 fois plus sensible que la méthode des étalements. Toutefois, il est à noter que les modifications morphologiques engendrées par la centrifugation à haute vitesse interdisent les études de morphométrie du parasite dans ces conditions. En revanche, l'identification du sous-genre est toujours réalisable.

La double centrifugation hématocrite est une variante de l'HCT qui consiste en une première centrifugation d'un volume de 1,5 ml de sang, suivi d'une HCT réalisée sur le buffy coat issu de la première centrifugation. Cette méthode a une sensibilité permettant de détecter moins de 100 trypanosomes/ml de sang (VERY et *al.*, 1990). Toutefois, la récupération du buffy coat est délicate et engendre des variations d'un technicien à l'autre. D'autre part, la technique est plus lourde pour un faible gain de sensibilité.

La méthode de MURRAY (BCM : "Buffy Coat Method") est une autre variante de la méthode de l'HCT, dans laquelle on coupe le tube capillaire afin d'extraire le

matériel biologique situé au niveau de l'interface globules/plasma. Un examen de ce matériel est réalisé à l'état frais entre lame et lamelle au microscope à fond noir (MURRAY et *al.*, 1977). Les trypanosomes sont brillants et attirent l'attention par leurs mouvements. Une variante de la technique consiste à observer le matériel biologique après fixation sur une lame et après coloration (BETANCOURT et *al.*, 1979 cité par DESQUESNES 2003).

Signalons au passage que d'autres méthodes moins courantes existent. C'est l'exemple de la technique de filtration sur colonne de DEAE-cellulose (LANHAM et GODFREY, 1970), la technique de centrifugation en silicone (NESSIEM, 1994) et la technique de la lyse hypotonique des globules rouges ou à l'aide de détergents (BOCQUENTIN et *al.*, 1989).

1.5.2.2.4- Culture des parasites

- Culture *in vivo*

Elle permet de visualiser longtemps après, des trypanosomes initialement rares lors des prélèvements. Pour l'isolement de souches de terrain (*T. vivax* dans certains cas, mais surtout *T. brucei* et *T. congolense*), une meilleure sensibilité est obtenue après irradiations des animaux (souris ou rats) ou immunodépression à l'aide de la cyclophosphamide (80-200mg/kg).

- Culture *in vitro*

Les cultures de trypanosomes *in vitro* sont délicates, longues et coûteuses. De ce fait, elles sont très peu employées pour le diagnostic. En revanche, elles sont souvent utilisées pour l'isolement de souches, la production de parasites, le clonage ou les études de sensibilité aux trypanocides. Toutefois, la seule technique sensible de diagnostic de *T. theileri* est la culture *in vitro*, qui peut être réalisée sur divers milieux : NNN (Novy, Mc Neal, Nicole), gélose au sang, milieu de NÖLLER, etc. (HOARE, 1972).

1.5.2.3- Détection d'antigènes

L'utilisation de sérums hyper-immuns permet de détecter des antigènes parasitaires dans des échantillons testés par la technique "ELISA-directe" (SINGH et *al.*, 1994 et 1995). Cette technique a tout d'abord été développée pour *T. evansi* et *T. congolense* à l'aide d'anticorps polyclonaux produits à partir d'extraits bruts de trypanosomes (RAE et LUCKINS, 1984) mais la spécificité d'espèce n'était pas satisfaisante. De plus, la production des réactifs est hautement technique et laborieuse. La méthode générale actuelle de l'antigène ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) a été mise au point par NANTULYA et LINDQVIST (1989) et repose sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques d'espèces. Ces anticorps monoclonaux sont utilisés à la fois pour capturer les antigènes parasitaires et révéler leur présence à l'aide du même anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase. La comparaison des performances des anticorps polyclonaux et monoclonaux pour les ELISA-immunocaptures *T. evansi* s'est avérée en faveur des derniers (DIALL et *al.*, 1992).

1.5.2.4- Détection d'anticorps

Les tests sérologiques utilisent la réponse immunitaire de l'organisme des animaux infectés. Compte tenu de l'existence des communautés antigéniques entre les différentes espèces de trypanosomes, la détection des anticorps n'est pas spécifique d'espèce. En revanche, elle est très sensible. On distingue :

- le test d'agglutination, le CATT TestND, l'hémagglutination indirecte (HI) et l'ELISA IgM (Immunoglobulines M); pour la détection des IgM ;
- la réaction de fixation du complément (RFC) (STAACK et LOHDING, 1979) ;
- le test d'immunofluorescence indirecte (IFI) ;
- l'ELISA IgG (Immunoglobulines G) pour la détection des IgG.

Pour cette détection des anticorps dirigés contre les trypanosomes chez les animaux, la méthode générale de l'ELISA-indirecte a été décrite par LUCKINS (1977) et repose sur la préparation d'antigènes solubles de trypanosomes qui permettent de

sensibiliser la plaque ELISA, et sur l'utilisation d'un conjugué d'espèce permettant de révéler la présence des immunoglobulines (Ig).

De ces méthodes (IFI, HI, RFC et ELISA), l'ELISA présente une très bonne reproductibilité et un faible coût, ce qui en fait un outil adapté aux enquêtes épidémiologiques (LUCKINS *et al.*, 1978 ; FERENC *et al.*, 1990).

1.5.2.5- Diagnostic par PCR

La PCR ou Polymerase Chain Reaction, est une amplification enzymatique en chaîne de l'ADN par la taq polymérase. Elle permet de révéler la présence de segments d'ADN ayant des séquences de bases connues, au moins en partie (HIGUCHI, 1989). La PCR appliquée au diagnostic des trypanosomoses animales africaines permet de révéler la présence du parasite et indique une infection active. En effet, après la mort du parasite, la persistance d'ADN libre dans la circulation de l'hôte est assez brève de l'ordre de 24 à 48 h (DESQUESNES, 1997 ; BENGALY *et al.*, 2001). Dans des conditions idéales, et en l'absence d'inhibiteurs, la détection d'une seule molécule d'ADN est possible, révélant l'extrême sensibilité potentielle de la technique (PANYIM *et al.*, 1993 ; PENCHENIER *et al.*, 1996). C'est donc une technique très sensible, mais aussi très fragile puisqu'une seule molécule contaminant un échantillon peut le rendre faussement positif.

2- Méthodes de lutte contre les trypanosomoses animales

Les moyens de lutte contre les trypanosomoses animales peuvent porter sur les trois éléments qui conditionnent leur existence : les parasites, les hôtes mammifères et les vecteurs. L'action sur les trypanosomes sera basée sur l'utilisation des médicaments trypanocides pour limiter les pertes occasionnées par les maladies causées et réduire les risques de propagation. A l'heure actuelle, à défaut d'une méthode de protection mettant en jeu les phénomènes immunitaires de l'hôte, l'utilisation de médicaments trypanocides à activité préventive, assure pendant plusieurs mois et sous certaines conditions, la protection des animaux susceptibles de contracter l'infection. La lutte contre les vecteurs permet de rompre le cycle de

transmission et favorise dans certaines zones le développement de l'élevage et de l'agriculture (CUISANCE et *al.*, 2003). Une autre méthode de lutte est l'utilisation de la résistance naturelle de certains animaux dits trypanotolérants en y associant la gestion des parcours afin d'éviter le contact avec les glossines (TEKO-AGBO, 2003). La faune sauvage qui constitue le réservoir de parasites est un handicap dans la lutte, car il est incontrôlable.

2.1- Lutte anti-vectorielle

La lutte anti-vectorielle reste une des bases de la lutte contre les trypanosomoses. Mais, les méthodes évoluent rapidement et au-delà de l'aspect technique, des stratégies se dessinent pour une meilleure valorisation des moyens limités dans la lutte contre les trypanosomoses animales (CUISANCE, 1991). La lutte contre les vecteurs des trypanosomoses animales africaines est essentiellement dirigée contre les glossines, qui en constituent les principaux agents de transmission. On distingue plusieurs méthodes dans cette lutte anti-vectorielle pouvant être classées en méthodes non chimiques et en méthodes chimiques.

2.1.1- Méthodes non chimiques

Ces méthodes visent à empêcher le développement de l'insecte vecteur de la maladie par une action directe ou indirecte sur sa natalité ou sa mortalité sans faire appel aux insecticides. Les méthodes de lutte ainsi utilisées peuvent être écologique, biologique, génétique ou mécanique.

2.1.1.1- Lutte écologique

Elle consiste à mener une action sur la végétation et sur la faune. En effet, l'éclaircissement forestier ou « prophylaxie agronomique » a pour but, en élaguant la végétation sous laquelle s'abritent les mouches et où elles déposent leurs larves, de modifier radicalement les conditions thermiques et hygrométriques qui leur sont nécessaires, ce qui les amène à quitter ces biotopes. La chasse et l'abatage du gibier sauvage pourraient aussi supprimer les réservoirs de trypanosomes et par conséquent affamer les glossines. L'éclaircissement forestier a été abandonné

depuis des décennies du fait principalement de son impact écologique désastreux. Il en est de même de l'élimination du gros gibier qui fut abandonnée à cause de son inefficacité, des difficultés logistiques et de ses effets néfastes sur l'environnement.

2.1.1.2- Lutte biologique

Elle consiste à exposer le vecteur à des prédateurs (fourmis, oiseaux, mangoustes dans le cas des pupes et araignées, Azilides, guêpes fossoyeuses du genre *Bembex* dans le cas des mouches adultes), à des parasites, à des parasitoïdes, à des germes pathogènes ou encore à perturber ses mécanismes physiologiques fondamentaux (synthèse de la chitine, des vitamines, diurèse) (CUISANCE et *al.*, 2003). La lutte biologique par l'utilisation des ennemis naturels des glossines est une alternative pour sauvegarder l'environnement des effets nocifs que peuvent occasionner les autres méthodes de lutte. Pour qu'elle soit efficace, les organismes ennemis et les insectes cibles ne doivent pas appartenir à la même aire géographique ou écologique (LEAK, 1999). Les résultats des différents essais réalisés n'ont pas été encourageants. Dans cette rubrique de lutte biologique, on peut également citer l'utilisation de composés actifs permettant de perturber les fonctions métaboliques de l'insecte. L'utilisation d'un mimétique de l'hormone juvénile (pyriproxifène) perturbe la métamorphose larvaire, et a été testée avec succès au Zimbabwe et en Côte d'Ivoire. D'autres produits capables d'empêcher la synthèse de la chitine (diflubenzuron, triflumuron) entraînent la production de descendants anormaux. Ces produits imprègnent les femelles soit directement par contact, soit par contamination par les mâles souillés lors de l'accouplement (BANCE, 2003).

Il existe une forme très spécifique de lutte biologique dite lutte génétique. C'est une technique non polluante, qui ne présente aucun danger pour les autres espèces animales. Elle consiste à altérer ou à modifier le potentiel reproducteur de l'insecte. Pour y parvenir, plusieurs moyens peuvent être employés :

- la Technique des Insectes Stériles (SIT). Elle repose sur l'introduction dans la population naturelle d'insectes, de mâles préalablement stérilisés par l'action d'agent physiques (radiostérilisation) ou chimique (chimiostérilisation) qui

entreront en compétition avec les mâles normaux de l'espèce correspondante. Cette technique est indiquée pour compléter d'autres méthodes notamment après une diminution drastique de la population concernée. Cette technique de lâcher de mâles stériles a été bien étudiée et a donné de très bons résultats dans certaines régions comme dans la zone agropastorale de Sidéradougou au Burkina Faso (CUISANCE et ITARD, 1973 ; CUISANCE et *al.*, 1978 ; CUISANCE et *al.*, 1979 ; POLITZAR et CUISANCE, 1982 ; CUISANCE et *al.*, 1984 ; POLITZAR et CUISANCE, 1984 ; HARGROVE et LANGLEY, 1990) ;

- l'accouplement d'insectes appartenant à des espèces voisines qui ne donneront pas de descendants ou donneront seulement des descendants stériles (hybridation) ;
- la sélection d'individus viables et fertiles porteurs d'anomalies héréditaires (manipulations génétiques) qui, en s'accouplant avec les individus normaux introduiront dans la population sauvage des facteurs génétiques entraînant son déclin.

Actuellement, la seule méthode disponible ayant eu une application pratique sur le terrain, est la méthode dite « du mâle stérile ».

2.1.1.3- Lutte mécanique

Elle consiste à soumettre l'insecte à l'action des moyens artificiels de capture ou d'empêchement du contact avec l'hôte. C'est le cas de l'utilisation des pièges qui sont des enceintes composées de couleurs attractives (bleu phtalogène pour les glossines du groupe *palpalis*) et de couleurs sombres (noir), favorisant la pénétration des glossines par des ouvertures basses ou latérales ; les mouches sont alors guidées vers une partie haute située au sommet (CHALLIER et LAVEISSIERE, 1973 ; CHALLIER et *al.*, 1977 ; LAVEISSIERE et GREBAUT, 1990).

2.1.2- Méthodes chimiques

La lutte par les méthodes chimiques est fondée sur l'imprégnation insecticide du pelage des animaux, des pièges/écrans, sur la pulvérisation insecticide par voie terrestre ou sur la pulvérisation aérienne d'insecticides. Ces méthodes ont pris une importance avec l'avènement des insecticides de synthèse.

Pour l'imprégnation insecticide du pelage des animaux, on utilise des pyréthrinoïdes sur des animaux domestiques (bains, douches et formulations « pour on ») qui constituent des pièges mortels pour les insectes hématophages ou les tiques. Quant à l'utilisation des pièges et écrans imprégnés d'insecticides, elle constitue le meilleur moyen de lutte anti-vectorielle en termes de simplicité, de coût, d'impact écologique et environnemental. Elle consiste à l'application d'insecticides rémanents (comme la Deltaméthrine[®] à raison de 100-200 mg/m² ou l'Alphacyperméthrine[®] à 380 mg/m²) sur des écrans/pièges qui attirent les glossines par leur couleur et parfois leur odeur (attractifs olfactifs) et les éliminent par contact. Si l'utilisation des pièges/écrans imprégnés a donné de bons résultats sur les espèces des groupes *palpalis* (LAVEISSIERE et al., 1981) et *morsitans* (WILLEMSE, 1991), la lutte contre le groupe *fusca* moins attiré par les odeurs pose problème.

Pour la pulvérisation insecticide par voie terrestre, elle est indiquée pour lutter contre les glossines de galeries forestières, à distribution linéaire et consiste à n'effectuer qu'un seul traitement avec des insecticides à longue rémanence (Dichlorodiphényl trichloroéthane: DDT, Dieldrin[®] et Deltaméthrine[®]), supérieure à la durée de pupaison (2 mois au maximum). La technique a été utilisée avec succès au Nigéria (BARRETT, 1997), mais aussi au Niger, au Sénégal, en Ouganda, en Zambie et au Zimbabwe.

La pulvérisation aérienne d'insecticide est basée sur des épandages successifs de très petites gouttelettes d'un insecticide relativement concentré, dispersé sur des vastes zones de savane arborée au moyen d'avions ou d'hélicoptères. On utilise couramment l'Endosulfan[®] et la Deltaméthrine[®]. D'autres insecticides biodégradables (Perméthrine[®] et Deltaméthrine[®]) ont été expérimentés par l'OMS

au Burkina Faso et en Côte d'Ivoire. Cette méthode a été utilisée avec succès dans certains pays comme le Burkina Faso, le Cameroun, la Côte d'Ivoire, le Niger, le Nigeria et la Zambie (BAUER, 1971 ; KOEMAN et *al.*, 1978 ; TAKKEN et *al.*, 1978).

2.2- Lutte par gestion des troupeaux

La lutte par gestion de troupeaux est une méthode qui peut paraître empirique, mais elle a néanmoins prouvé son efficacité (DE LA ROCQUE, 2001). Elle comprend notamment la sélection par les éleveurs de races trypanotolérantes ou la gestion quotidienne des parcours pour éviter le contact avec les glossines.

La trypanotolérance est définie comme la capacité relative d'un animal à contrôler le développement des parasites et à limiter leurs effets pathologiques, l'effet prédominant étant l'anémie (D'IETEREN et *al.*, 1998). Les races bovines trypanotolérantes de l'Ouest africain sont constituées par certaines races taurines (*Bos taurus*). Le développement et la propagation des races trypanotolérantes représentent certainement aujourd'hui un des meilleurs moyens de lutte contre les trypanosomoses animales. Malheureusement, la dissémination à grande échelle des races trypanotolérantes se heurte à des problèmes à cause des difficultés techniques à mettre en route des programmes cohérents de sélection, faute d'identification de marqueurs pratiques fiables de la résistance et/ou de la susceptibilité à la maladie (DIARRA, 2001 cité par TEKO-AGBO, 2003).

2.3- Intervention contre les parasites

A l'état actuel, le moyen le plus utilisé dans la lutte contre les trypanosomoses animales est la chimiothérapie (la chimioprophylaxie sous certaines conditions). Elle s'appuie sur l'emploi de médicaments trypanocides. On estime qu'environ 35 millions de doses trypanocides sont administrées chaque année à travers l'Afrique et que la vente de produits trypanocides (GEERTS et HOLMES, 1998), en Afrique subsaharienne représente 44% du marché total des médicaments vétérinaires (CUISANCE et *al.*, 2003). La chimiothérapie/chimioprophylaxie chez les animaux

domestiques fait couramment appel aux sels de six composés dont certains sont chimiquement voisins (PEREGRINE, 1994). Le mécanisme d'action de ces composés consiste généralement à perturber ou à bloquer un ou plusieurs processus vitaux des trypanosomes freinant ainsi la multiplication des parasites. Ainsi, en fonction de la durée d'absorption/excrétion par l'organisme, on distingue les trypanocides curatifs et les trypanocides préventifs.

Les trypanocides curatifs sont surtout conseillés dans des situations où le risque de la maladie est faible afin de guérir les infections au fur et à mesure que les cas se déclarent (BOYT, 1986 ; DIALL, 1997). Ainsi, ils ne doivent pas être utilisés dans les traitements de masse.

Par contre, les trypanocides préventifs sont préconisés dans des situations où le risque de la maladie est élevé dans une zone sur une période de l'année ou sur toute l'année. Ceci, du fait qu'aucun des traitements curatifs ne peut plus assurer la santé des troupeaux à cause des infections nombreuses et fréquentes (UILENBERG, 1998).

Généralement, l'acéturate de diminazène, le chlorure d'isoméamidium et l'homidium (chlorure ou bromure d'homidium) sont les produits trypanocides recommandés dans le traitement et la prophylaxie des trypanosomoses animales chez les bovins et les petits ruminants (LEACH et ROBERTS, 1981).

2.3.1- Chlorure d'isoméamidium

Il s'agit d'une amidine aromatique-phénanthridine connue sous divers noms déposés: Trypamidium[®], Samorin[®] et Véridium[®]. Il est utilisé à la fois à titre préventif et curatif. Comme curatif, il est utilisé aux doses comprises entre 0,25 et 0,5 mg/kg de poids vif et s'est avéré efficace dans le traitement des trypanosomoses animales (PETROVSKII, 1974). Aux doses prophylactiques recommandées (0,5-1mg/kg de poids vif), la molécule a également montré une activité remarquable chez les zébus d'Afrique de l'Est (TRAIL et *al.*, 1985 ; MOLOO et *al.*, 1987). Bien que des variations importantes de la durée de protection allant de 2 à 22 semaines

aient été notées par de nombreux auteurs (KIRBY, 1964 ; PINDER et AUTHIE, 1984 ; WHITELAW et *al.*, 1986 ; PEREGRINE et *al.*, 1991), elles ne semblent dépendre ni de l'importance du risque de la maladie, ni de la présence de l'infection ou non au moment du traitement (PEREGRINE et *al.*, 1988). Des travaux sur le terrain ont révélé que plus la dose est élevée, plus la durée de protection est longue (CONNOR, 1991). La voie intramusculaire est la voie recommandée par le fabricant pour l'administration du produit, mais il est également établi que la voie intraveineuse peut également être utilisée (TOURE, 1973 ; BALIS 1977 ; ALI et HASSAN, 1984).

Le mode d'action exact de l'isométabidum n'est pas bien connu. De façon générale, tous les produits de la classe des phénanthridines agiraient principalement par:

- blocage de la synthèse de l'acide nucléique en s'intercalant entre les bases paires de la double hélice de l'ADN (WAGNER, 1971 ; KINABO et BOGAN, 1987) ;
- inhibition de la polymérase de l'ARN (RICHARDSON, 1973), de la polymérase de l'ADN (MARCUS et *al.*, 1982), de la biosynthèse des glycoprotéines (CASERO et *al.*, 1982) ;
- inhibition du métabolisme des lipides (DIXON et *al.*, 1971), de l'ATP (FRANCK-HENDERSON et *al.*, 1977) et du transport membranaire (GIRGIS-TAKLA et JAMES, 1974).

Pour SHAPIRO et ENGLUND (1990), le principal mode d'action serait le clivage sélectif des minicercles de l'ADN du kinétoplaste.

2.3.2- Acéturate de diminazène

C'est une diamidine aromatique commercialisée le plus souvent sous forme combinée avec le phényldiméthyl pyrazolone (antipyrine) (FAIRCLOUGH, 1962) qui aurait pour rôle de stabiliser la molécule en solution pendant 10 à 15 jours à la température ambiante, de réduire les lésions inflammatoires et de permettre la chute rapide de la fièvre intermittente. Il est connu sous divers noms déposés: Bérénil[®],

Vériben[®], Azidine[®], Ganaseg[®], Ganasegur[®] et Diamyl[®]. C'est le trypanocide le plus couramment utilisé en Afrique comme agent curatif (PEREGRINE et MAMMAN, 1993). Rapidement excrété de l'organisme, il ne possède qu'une courte activité prophylactique qui ne dépasse pas trois semaines, raison pour laquelle il est strictement réservé au traitement curatif (MDACHI et *al.*, 1995). Il est généralement administré par voie intra musculaire, mais la voie sous cutanée peut être aussi utilisée. La dose de 3,5 mg/kg de poids vif permet d'éliminer les souches sensibles de *T. vivax* et *T. congolense* mais la guérison des affections à *T. brucei* nécessite des doses plus élevées pouvant atteindre 7 mg/kg de poids vif (FUSSGÄNGER et BAUER, 1958 cités par DIARRA, 2001).

Le mode d'action de ce trypanocide semble être dû à ses propriétés anti-métaboliques glucidique et protidique :

- sur le métabolisme protidique, le diminazène inhibe la synthèse des acides nucléiques en s'attachant à l'ADN du kinétoplaste non pas par intercalation (MacADAM et WILLIAMSON, 1972 ; BENARD et RIOU, 1980) mais à travers une interaction spécifique avec les sites riches en bases paires adénine-thymine (NEWTON, 1972 ; BRACK et DELAIN, 1975). Par cette interaction spécifique, le diminazène inhibe la synthèse des amorces d'ARN (MARCUS et *al.*, 1982) et la topoisomérase de la mitochondrie (SHAPIRO et ENGLUND, 1990).
- sur le métabolisme glucidique, le diminazène inhibe les enzymes glycolytiques (pyruvates kinases, glycérophosphates déshydrogénases) (EUZEBY, 1986). Ce dernier évoque le rôle du diminazène dans le phénomène d'opsonisation par sensibilisation du parasite à l'action des macrophages.

2.3.2- Homidium

Il appartient à la classe des phénanthridines et est commercialisé sous forme de deux sels : le bromure d'homidium (Ethidium[®]) et le chlorure d'homidium (Novidium[®]). Ils sont généralement recommandés dans le traitement curatif des ruminants à la dose de 1 mg/kg de poids vif. Dans les cas d'infection à *T. brucei*, il

convient de porter la dose à 1,5-2 mg/kg de poids vif (BOYT, 1986). L'administration de l'Ethidium[®] chez le bétail peut lui conférer une protection de 2-19 semaines dans les infections naturelles (LEACH et *al.*, 1955). Les facteurs déterminant cette durée de protection seraient la susceptibilité des parasites et le risque de l'infection (DOLAN et *al.*, 1990, 1992). Certains pays ont suspendu l'emploi de l'homidium à cause de l'apparition de nombreuses souches résistantes, mais il est encore largement utilisé dans les pays anglophones.

Le mécanisme d'action de l'homidium est semblable à celui de l'isoméтамidium. Il inhibe la réplication et la synthèse de l'ADN et de l'ARN, inhibe la topoisomérase de la mitochondrie (SHAPIRO et ENGLUND, 1990) et inhibe également la synthèse des polyamines (BACCHI, 1980).

Tous ces trypanocides sont des anciennes molécules (GEERTS et HOLMES, 1998) utilisées dans la lutte contre les trypanosomoses animales africaines (TAA). Malgré le nombre limité de trypanocides, le mécanisme exact par lequel ils exercent leur action n'est pas complètement élucidé. L'émergence des phénomènes de chimiorésistance conduisant aux échecs thérapeutiques constitue un problème majeur de l'emploi des médicaments trypanocides sur le terrain (FAO, 2002).

3- Phénomène de chimiorésistance

3.1- Définitions

La chimiorésistance est un processus biologique au cours duquel on note une diminution ou une absence naturelle ou acquise de la sensibilité des organismes à des substances chimiques médicamenteuses normalement actives dans le groupe taxonomique (ABIOLA et *al.*, 1999). Classiquement, on distingue deux types de résistances : la résistance innée et la résistance acquise.

La résistance innée est naturelle ou intrinsèque. Il s'agit d'un phénomène constitutif stable, affectant tous les individus de toutes les souches et est présent avant tout contact avec le médicament. Ce type de résistance est fixe et constant à l'intérieur

3.2- Situation actuelle de la chimiorésistance

La résistance aux trypanocides a été rapportée dans au moins 13 pays en Afrique subsaharienne : Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Ethiopie, Kenya, Nigeria, Ouganda, Somalie, Soudan, Tanzanie, Tchad, Zimbabwe (PEREGRINE, 1994, cité par GEERTS et HOLMES, 1998), Centrafrique (FINELLE et YVORE, 1962) et Zambie (EISLER et *al.*, 2000a). Il s'agit probablement d'une sous-estimation car on ignore la situation dans beaucoup de pays du fait que soit les enquêtes n'ont pas encore été menées dans ces pays, soit les résultats des études ne sont pas connus par faute de publications. Les informations disponibles ne concernent que des cas limités et ne donnent aucune indication sur la prévalence de la résistance au niveau de la région ou à l'échelle du pays, car l'enquête systématique n'a pas été réalisée (GEERTS et HOLMES, 1998).

3.3- Mécanismes de la résistance

Les mécanismes de la résistance aux trypanocides et de la résistance croisée chez les trypanosomes africains sont mal connus ou inconnus d'autant plus que le mode d'action des trypanocides sur les trypanosomes est encore mal élucidé. Cependant, on pense que plusieurs mécanismes pourraient être impliqués :

- une modification de la perméabilité cellulaire chez le trypanosome pouvant aboutir à une réduction de la quantité de produit absorbé par le parasite (MULUGETA et *al.*, 1997) ;
- une modification de la cible des trypanocides. En effet, la liaison trypanocide cible est en relation avec la structure de la cible, notamment pour les transporteurs de nucléosides. Diverses mutations peuvent entraîner des modifications structurales diminuant ainsi l'efficacité du trypanocide. Ce mécanisme est retrouvé pour de nombreux trypanocides et concerne la plupart des espèces de trypanosomes (CARTER et FAIRLAMB, 1993) ;
- une synthèse des enzymes qui réduisent l'activité des trypanocides. Certains trypanosomes sont capables de synthétiser des enzymes pouvant réduire

l'activité des trypanocides ou même les inactiver. Ces enzymes créent ainsi une barrière limitant le contact entre le parasite et le trypanocide (SUTHERLAND et *al.*, 1991) ;

- une existence d'un refuge ou d'une barrière limitant le contact entre le médicament et le parasite ;
- une augmentation de l'efflux des trypanocides des trypanosomes.

L'exposition des trypanosomes à des doses sub-létales de trypanocides a des chances de produire la chimiorésistance. L'exposition est fonction de la concentration du produit utilisé, de la durée du produit dans le corps de l'animal et de la fréquence d'administration du produit.

Le support génétique de la résistance des trypanosomes est le chromosome. La stabilité génétique de la chimiorésistance a été prouvée chez les trypanosomes. Le rôle des mutations génétiques des trypanosomes dans l'acquisition de résistance aux trypanocides aurait été établi. Pour PEREGRINE et *al.* (1991), la sélection des souches résistantes de trypanosomes a lieu lors de la multiplication asexuée chez l'animal hôte et au moment des échanges génétiques chez le vecteur.

Quelque soit le mécanisme d'action, l'aboutissement final est l'échec de traitement trypanocide. Cependant, tout échec thérapeutique n'est pas synonyme de résistance, d'où l'importance capitale des tests appropriés pour la détection de la résistance aux trypanocides.

3.4- Méthodes de détection de la résistance aux trypanocides

Plusieurs méthodes ont été décrites pour détecter la chimiorésistance (PEREGRINE, 1994). Actuellement, trois types de tests sont couramment utilisés pour la mise en évidence de la chimiorésistance. Il s'agit des tests sur les ruminants, des tests sur les souris et des tests *in vitro*. Cependant, aucun de ces tests ne représente l'idéal et d'autres tests sont en phase de développement ou de validation.

3.4.1- Tests sur les ruminants

Ils consistent à infecter un groupe de bovins ou de petits ruminants élevés dans une région indemne de tsé-tsé ou sous moustiquaire, avec l'isolat à évaluer. Lorsque les animaux sont parasitémiques, ils sont traités avec différentes doses du trypanocide à étudier. Les animaux sont alors soumis à un suivi parasitologique régulier sur une période supérieure à 100 jours afin de déterminer la dose efficace (DE), c'est-à-dire la dose qui rend les parasites indétectables dans la circulation générale, et la dose curative (DC), c'est-à-dire la dose qui confère la guérison définitive (SONES *et al.*, 1988, CUISANCE *et al.*, 2003).

Si la méthode offre l'avantage de fournir des résultats directement applicables sur le terrain, elle présente également des inconvénients par :

- le coût élevé de l'obtention et de l'entretien des ruminants ;
- la longue durée du suivi ;
- le test qui doit se faire sur des animaux naïfs vis-à-vis de la trypanosomose, condition difficile à assurer.

3.4.2- Tests sur les souris

Il s'agit d'inoculer la souche résistante de trypanosomes à des groupes de 5 à 6 souris (sauf s'il s'agit de *T. vivax*) et, au bout de 24h ou au pic de parasitémie, traiter chaque groupe de souris, excepté le groupe témoin, avec des doses croissantes du trypanocide suspecté. Un suivi parasitologique est effectué à raison de trois fois par semaine pendant 60 jours, afin de déterminer la DE 50 ou 95 et la DC 50 ou 95 (PEREGRINE *et al.*, 1991).

Les inconvénients de cette méthode sont les suivants:

- les résultats obtenus sur souris ne sont pas facilement extrapolables aux bovins. En effet, à cause des différences de métabolisme, il faut inoculer à la souris 10 à 100 fois la dose curative utilisée chez le bovin pour obtenir les mêmes résultats ;

- la plupart des isolats de *T. vivax* et quelques populations de *T. congolense* ne s'adaptent pas aux cultures sur souris ;
- le nombre très élevé de souris que requiert la méthode.

3.4.3- Tests sur les cultures de trypanosomes (*in vitro*)

La culture *in vitro* permet l'incubation de trypanosomes sous des concentrations variées de trypanocides. La viabilité de trypanosomes peut être estimée par le changement de la couleur ou de la fluorescence du milieu de culture.

Cette méthode a l'avantage de permettre la caractérisation d'un grand nombre d'isolats en même temps. Cependant, elle présente des inconvénients :

- les cultures *in vitro* des formes sanguines sont possibles seulement avec les souches pré adaptées et non avec les isolats provenant directement des animaux naturellement infectés (HIRUMI et *al.*, 1993). L'adaptation des souches à la culture peut changer leur niveau de résistance;
- le besoin en matériel spécifique et un personnel qualifié entraînant des coûts importants.

Il existe des techniques combinant les méthodes *in vitro* et *in vivo* et qui consistent à incuber les trypanosomes en présence de trypanocide pendant un laps de temps puis à inoculer la suspension de trypanosomes à des souris (Drug Incubation Infectivity Test : DIIT) (KAMINSKY et *al.*, 1990) ou à la donner à des mouches ténérales (*G. m. morsistans*) à travers une membrane de silicone (Drug Incubation *Glossina* Infectivity Test : DIGIT) (CLAUSEN et *al.*, 2000). Les souris inoculées seront suivies pendant trente jours alors que les mouches seront disséquées 20 jours après le repas sanguin (suspension) pour la recherche de parasites vivants dans le labium, l'hypopharynx et l'intestin moyen.

3.4.4- Méthode ELISA de détection de médicaments

C'est une méthode développée à l'Université de Glasgow en collaboration avec l'ILRI (EISLER et *al.*, 1993 ; 1996a) permettant de détecter des quantités infimes

d'isométabidum dans le sérum des bovins et qui peut être utilisée comme test indirect de détection de la résistance en conjonction avec les méthodes classiques de diagnostic de trypanosomes. Elle s'est révélée à la fois sensible, spécifique et reproductible lorsqu'elle a été testée dans les conditions expérimentales et sur le terrain (EISLER, 1996 ; EISLER et *al.*, 1994 ; 1996b ; 1997). Les résultats ont permis d'avancer que des trypanosomes présents chez un animal avec une concentration d'isométabidum dans son sérum supérieure à 0,4 ng/ml seraient résistants. D'autres travaux de recherches ont été entrepris en vue d'une amélioration de la sensibilité du test (DIARRA, 2001) et pour le développement et la validation de la même technique pour les autres trypanocides (MUBANGA, 1996).

3.4.5- Données parasitologiques des enquêtes de terrain

Des données parasitologiques issues des enquêtes longitudinales peuvent être utilisées pour la détection des problèmes de la chimiorésistance. ROWLANDS et *al.*, (1993) ont utilisé cette méthode pour détecter les problèmes de résistance dans la vallée de Ghibe dans la partie Sud-ouest de l'Ethiopie. C'est une méthode basée sur l'analyse par un modèle informatique des données parasitologiques mensuellement collectées au cours d'enquêtes épidémiologiques longitudinales. Cette méthode a l'avantage de fournir des résultats directement applicables sur le terrain. Cependant, elle a comme inconvénient la sous-estimation de la vraie prévalence de la chimiorésistance, l'obtention des résultats qui sont rétrospectifs et le coût élevé de la méthode. Cette même approche a également été utilisée par EISLER et *al.* (2000) pour évaluer la résistance à l'isométabidum. La méthode de EISLER et *al.* (2000) a été appliquée avec succès par TEWELDE et *al.* (2004) en Ethiopie et par McDERMOTT et *al.* (2003) au Burkina Faso.

3.4.6- Diagnostic moléculaire de la chimiorésistance

Méthode récemment mise au point, elle est basée sur un test PCR/RFLP (Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphism) et elle permet de faire la distinction entre les isolats de *T. congolense* résistants et sensibles à l'isométymidium. Les techniques basées sur la PCR/RFLP constituent des outils intéressants tant dans l'évaluation de la chimiorésistance à grande échelle que dans le cadre de la caractérisation individuelle de souches, mais elles doivent encore être validées et affinées (DELESPAUX *et al.*, 2005).

4- Stratégies de lutte contre les trypanosomoses africaines et leurs vecteurs

A l'heure actuelle, les stratégies de lutte contre les trypanosomoses africaines et leurs vecteurs se résument:

- aux actions de lutte intégrée menées contre les parasites et les vecteurs ;
- à la surveillance épidémiologique de la maladie du sommeil ;
- aux projets et programmes d'envergure régionale, nationale ou sectorielle ;
- aux cadres de réflexion pour la définition de zones prioritaires ;
- au PATTEC (Pan African Tsetse and Trypanosomiasis Eradication Campaign) qui est un programme de l'Union Africaine (UA).

Ce dernier programme est né en Juillet 2000 à Lomé de la volonté des Chefs d'Etats de l'UA de libérer définitivement le continent du fléau des trypanosomoses. Il a été lancé en Octobre 2001 à Ouagadougou lors de la 26^{ème} conférence du Conseil Scientifique International pour la Recherche et la Lutte Contre les Trypanosomoses (CSIRLT).

PARTIE EXPERIMENTALE :

***Etude de la résistance des trypanosomes à
l'isométymidium et au diminazène dans la
zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest***

CADRE DE L'ETUDE

1- Présentation générale

Notre zone d'étude se partage entre trois pays (Burkina Faso, Guinée et Mali) et se situe dans les régions subhumides et cotonnières d'Afrique de l'ouest (figure 1).

Cette zone regroupe :

- la province du Kéné Dougou au Burkina Faso ;
- les cercles de Sikasso, de Bougouni et de Yanfolila au Mali ;
- la préfecture de Mandiana en Guinée.

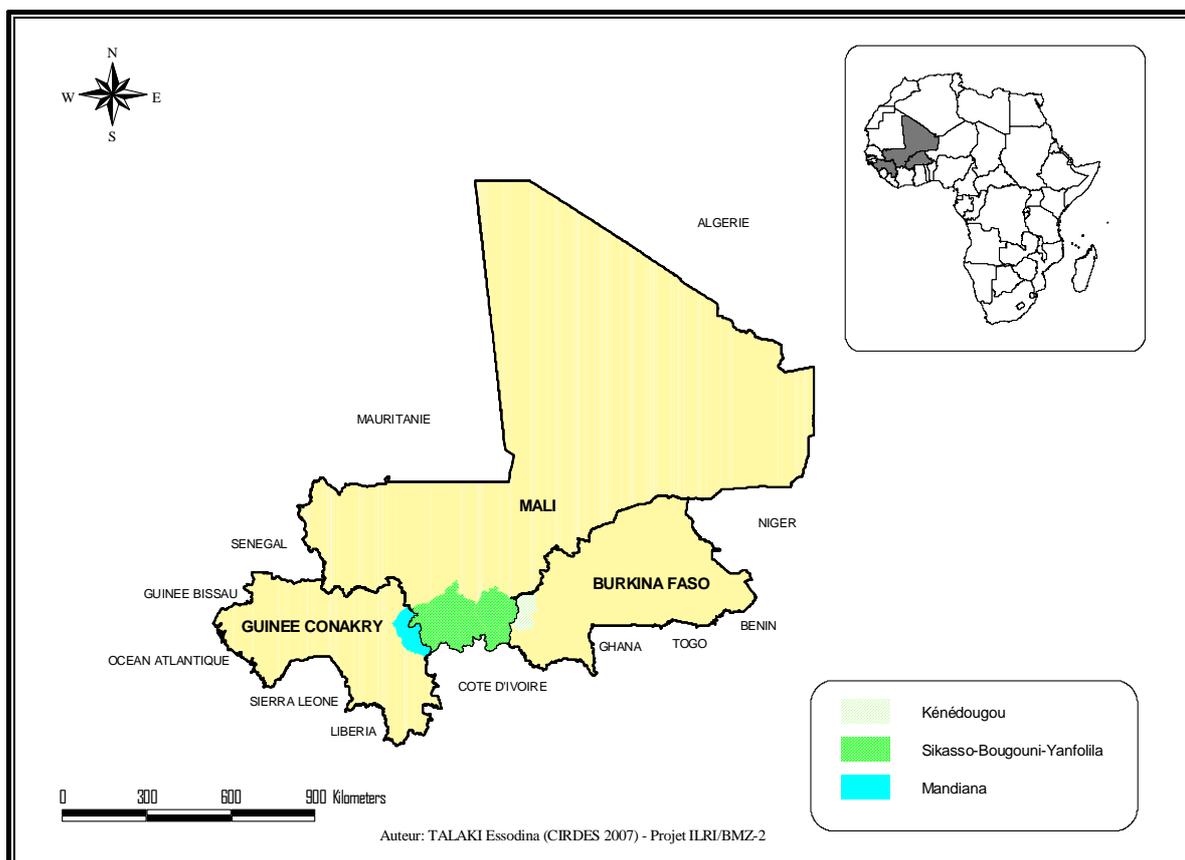


Figure 1 : Zone d'étude

Dans cette zone, l'agriculture au sens strict du terme, constitue la principale activité économique, avec le coton comme produit phare. L'élevage bovin constitue le

moteur de cette économie ; il fournit des bœufs pour les travaux agricoles et le transport des intrants, de la fumure pour la fertilisation des sols, et constitue un moyen d'épargne et de capitalisation des revenus tirés de la vente du coton. Les trypanosomoses animales africaines constituent la principale contrainte sanitaire au développement de cet élevage.

1.1- Province du Kéné Dougou au Burkina Faso

La province du Kéné Dougou est située à l'extrême Ouest du Burkina Faso entre 4°30 et 5°30 de longitude Ouest et 10°5 et 12°5 de latitude Nord. Avec une superficie de 8 265 km², elle est limitée au Nord et à l'Ouest par la République du Mali, à l'Est par la province du Houet et au Sud par les provinces de la Léraba et de la Comoé. Son chef lieu est Orodara, qui est une commune urbaine située à 75 km à l'Ouest de Bobo-Dioulasso et à 55 km de la frontière du Mali, pays voisin.

Le relief est marqué par la présence de plateaux et de plaines inclinées vers le Nord. La grande partie est constituée de plateaux dont l'altitude moyenne est de 450 m (400 m au Nord et 500 m au Sud). A ces deux grandes unités topographiques, s'ajoutent quelques collines et escarpements.

Le climat tropical est de type sud soudanien avec en moyenne 900 à 1400 mm de pluie par an. Une saison humide (Mai à Novembre) et une saison sèche (Décembre à Avril) avec quelques variations caractérisent le climat de la province du Kéné Dougou.

Cinq types de sols sont rencontrés dans cette province: les sols gravillonnaires, les sols argilo-sableux en surface et argileux en profondeur, les sols argilo-sableux à argileux en surface, les sols limono-argileux à argilo-limoneux en surface et argileux en profondeur et les sols sableux en surface et argileux en profondeur.

Le réseau hydrographique est constitué de deux principaux cours d'eau qui sont le Banfing et le Mouhoun, de mares et de sources d'eau naturelles. La savane boisée, la savane arborée, la savane herbeuse, la forêt claire et la forêt galerie constituent les différentes formations végétales rencontrées dans cette province.

La province actuelle du Kéné Dougou constitue avec celles du Houët et du Tuy la région des Hauts Bassins avec Bobo-Dioulasso comme capitale de la région. Elle compte 13 départements avec 169 villages. Le système socio-politique est de type décentralisé. La population était estimée au recensement administratif de 2001, à 209 920 habitants avec une densité de 22 habitants/km². Elle est composée de plusieurs groupes ethniques à majorité Sénoufo représentant 54% de la population (DABIRE, 2005).

Plusieurs activités économiques sont pratiquées dans la province, mais l'arboriculture, l'agriculture et l'élevage occupent plus de 80% de la population. C'est une zone arboricole par excellence, surtout dans sa partie sud. Elle produit d'énormes quantités de mangues, d'agrumes et d'anacardes. Le maraîchage est une activité porteuse dans cette zone. L'agriculture reste prédominante dans les activités économiques dont les facteurs de production sont la terre, le capital et le travail. C'est une agriculture traditionnelle orientée vers l'autoconsommation et basée sur une organisation familiale avec le ménage comme unité de production. Les principales productions agricoles sont :

- les céréales composées de mil, de sorgho, de maïs, de riz et de fonio ;
- les tubercules composés d'ignames, de patates, de maniocs, de voandzou et de taros ;
- les cultures de rente composées de coton, d'arachide, de sésame, de niébé et de soja.

Ainsi, au vu de la diversité des productions réalisées, cette province connaît en général un excédent céréalier conduisant à une exportation vers les pays voisins (Mali, Niger et la Côte d'Ivoire). Quant au coton, l'écoulement se fait à travers un circuit organisé de la SOFITEX (Société Burkinabé de Fibres Textiles).

Dans cette province, l'élevage connaît aussi un développement remarquable avec un cheptel estimé à 1 059 461 têtes d'animaux en 2004, dominé par la volaille et les bovins. Avec un cheptel bovin estimé à 351 779 têtes, le Kéné Dougou occupe la quatrième place nationale derrière le Séno, la Gnagna et le Houët, en raison de ses

nombreux atouts écologiques. Cependant, cet élevage reste traditionnel à 80% et est pratiqué sous trois formes :

- l'élevage commun à tous les agriculteurs, reposant sur la volaille, les petits ruminants et les bœufs de trait ;
- l'élevage bovin sédentaire observé chez les agro-éleveurs et les éleveurs peulhs ;
- l'élevage transhumant observé chez les pasteurs peulhs.

Les principales maladies du bétail rencontrées sont la péripneumonie contagieuse bovine (PPCB), la fièvre aphteuse, les pasteurelloses, le charbon symptomatique, la coudriose, les parasitoses gastro-intestinales et surtout les trypanosomoses animales.

1.2- Zone d'étude au Mali

Elle regroupe les cercles de Sikasso, de Bougouni et de Yanfolila et fait partie d'un plus grand ensemble territorial appelé Mali-Sud.

Dans cette zone, le climat se caractérise par une alternance très prononcée entre une saison sèche, dominée par des vents secs venants du Sahara connus sous le nom d'harmattan, et une saison pluvieuse de 3 à 5 mois (entre Juin et Octobre) avec des vents humides venant du Golfe de Guinée communément appelés mousson. Les précipitations totales et la durée de la saison des pluies augmentent en allant du Nord vers le Sud. Il s'agit d'une zone subhumide à humide.

Le relief de la zone est généralement faible, l'altitude moyenne est comprise entre 280 et 400 mètres excepté à l'Ouest et au Sud de Sikasso où le point le plus élevé atteint 750 mètres (BERTHE et *al.*, 1991). Les types de sols rencontrés sont :

- les sols d'origine colluvio-alluviale, notamment sur les sommets et les pentes recouverts d'une cuirasse ferrugineuse à faible profondeur avec un potentiel de production faible à nul ;

- les sols des plaines alluviales à texture parfois lourde avec une capacité en eau disponible élevée ;
- les sols légèrement sableux, profonds à fertilité naturelle moyenne.

Le réseau hydrographique est constitué des bassins versants du Niger et de son affluent le Bani. Les principaux axes de drainage ont une orientation Sud-Nord.

La population est à dominante rurale généralement regroupée en concessions familiales constituées souvent de plusieurs familles. Différentes ethnies cohabitent et se répartissent selon les zones géographiques. A l'Ouest dans le cercle de Yanfolila, on retrouve les Peulhs qui se sont sédentarisés et une récente migration de cultivateurs Dogon dans ce cercle. Dans le cercle de Bougouni, se retrouvent les Bambara qui cohabitent avec les Sénoufo. Ceux-ci prédominent dans le cercle de Sikasso. Signalons que les Bobo se rencontrent dans les zones frontalières avec le Burkina Faso.

L'économie de cette zone du Mali est largement dépendante du secteur primaire et, plus particulièrement, de l'agriculture pluviale qui bénéficie de conditions naturelles favorables à son développement et à sa diversification. Les principales cultures vivrières et industrielles sont : le mil, le sorgho, le maïs, l'arachide et le coton. Dans le développement de ces productions agricoles, le coton apparaît comme la culture motrice du système de production de tout le Mali-Sud. La culture et la commercialisation du coton dans cette zone sont entièrement encadrées par la Compagnie Malienne de Développement des Textiles (CMDT). Les systèmes de production agricole sont de type agropastoral, mais l'agriculture y est largement prédominante. L'activité agricole traditionnelle est la culture itinérante après défrichage et brûlis qui évolue vers une agriculture sédentaire à rotation biennale de type coton-céréale ou triennale de type coton-céréale-céréale.

La chasse, dont les produits constituent un apport important en protéines animales, a toujours constitué une activité à la fois de subsistance et socio-culturelle assez importante, en particulier dans le Wassoulou (cercles de Bougouni et de Yanfolila).

La pêche est également répandue dans de nombreux cours d'eau (fleuves et rivières) et mares.

Les potentialités de la zone en ressources animales sont également appréciables. Les bovins, ovins et caprins constituent les principales espèces d'élevage. Il existe un fort accroissement du cheptel dans cette zone qui correspond à la fois au développement de l'activité d'élevage par les agriculteurs eux-mêmes et à l'afflux d'éleveurs et de troupeaux quittant le nord du pays du fait de la sécheresse. Si l'on considère le seul élevage bovin, on constate que deux systèmes d'élevages spécifiques cohabitent : le système sédentaire et le système transhumant.

Cependant, l'une des causes de la faible productivité des animaux dans cette zone est aussi les trypanosomoses animales.

1.3- Préfecture de Mandiana en Guinée

La zone d'étude en Guinée correspond à la préfecture de Mandiana située au Nord – Est du pays, dans la partie haute entre les 10° et 12° degrés de latitude Nord et les 8° et 10° degrés de longitude Ouest. Elle est frontalière avec le Mali et la Côte d'Ivoire et couvre une superficie de 12 300 km² avec 515 000 hectares comme superficie cultivable dont 32 000 hectares rizicultivables. Elle compte une population de 173 150 habitants dont 87 397 femmes (DAO, 2005).

Le relief est essentiellement constitué de vastes plaines et de plateaux latéritiques. Les plaines sont rizicoles et longent les cours d'eau avec d'immenses bas-fonds aménageables.

Le climat est de type tropical sud soudanien (soudano-guinéen) au Nord avec une tendance préforestière au Sud et est caractérisé par l'alternance de deux saisons : une saison sèche de Novembre à Avril et une saison pluvieuse de Mai à Octobre. Les moyennes pluviométriques annuelles varient entre 1300 et 1500 mm. Les deux vents dominants sont l'harmattan (saison sèche) et la mousson. Les températures moyennes varient entre 15° et 35°C. La période allant de Novembre à Janvier est la plus fraîche de l'année.

Une classification simplifiée permet de distinguer deux types de sols dans la préfecture de Mandiana :

- les sols hydromorphes, meubles, profonds, constitués de sables et d'argile. Ils sont caractéristiques des bas-fonds et se rencontrent dans les dépressions et longent les cours d'eau ;
- les sols ferrallitiques de couleur rouge liée à la forte teneur en fer.

Le réseau hydrographique est essentiellement composé des cours d'eau qui sont : la Fié (201 km), le Milo (300 km) et le Sankarani (670 km). Ce dernier a un régime temporaire et sert de frontière avec le Mali. Tous ces cours d'eau se déversent dans le bassin du Niger.

Liée au climat, la formation végétale typique est la savane boisée constituée de hautes herbes de la famille des Andropogons et aussi d'arbres (*Butirospermum parkii*, *Parkia biglobosa*, *Bombax costatum*). La faune sauvage est constituée de cynocéphales, de chevreuils, de biches, d'antilopes et surtout de phacochères et de serpents. Dans les fleuves, on rencontre des caïmans et des hippopotames.

La préfecture de Mandiana compte 12 sous-préfectures avec une population essentiellement composée de Malinkés et de Peuhls dits Peulhs du Wassoulou et est répartie dans 109 districts. La densité est de 14 habitants au km². C'est une population pour la plupart rurale avec une population agricole d'environ 147 177 personnes sur 173 150 habitants. L'Islam est la religion pratiquée par la plupart de la population, puis viennent le christianisme et l'animisme (DAO, 2005).

L'agriculture, l'élevage, la pêche, l'artisanat et l'exploitation de l'or constituent le trépied de l'économie de la préfecture. Les principales productions agricoles sont le maïs, le mil, le sorgho, l'arachide, le riz, le manioc, le coton, les cultures maraîchères et fruitières. L'agriculture est intégrée à l'élevage. Pour la mise en valeur des terres cultivables, l'animal est considéré comme la principale force motrice. La traction animale est utilisée par plus de la moitié des exploitants agricoles.

C'est une zone d'élevage par excellence avec un cheptel estimé à 131 737 têtes bovins (essentiellement de bovins N'Dama), 39 904 ovins, 34 858 caprins, 1 692 asins, 5 équins (DAO, 2005). Il s'agit d'un élevage pratiqué à l'échelle familiale, de type traditionnel reposant sur un mode extensif. En saison pluvieuse, les animaux sont rassemblés dans les parcs aménagés en pleine forêt ou autour du village. En saison sèche, les animaux sont laissés en divagation jusqu'au début des labours.

Les trypanosomoses animales, la péripneumonie contagieuse bovine, la pasteurellose, la maladie de Newcastle et la rage sont les principales maladies animales de la zone.

Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l’Afrique de l’Ouest (Mali et Guinée)

Talaki E.^{1*}, Sidibé I.¹, Diall O.², Grace D.³, Barry A.M.⁴, Diarra B.⁵, Djiteye A.², Bocoum Z.², Clausen P-H.³, Randolph T.⁶, Affognon H.⁷, Hendrickx G.⁸, Pangui L.J.⁹, Belem A.M.G.¹⁰

¹ Centre International de Recherche Développement sur l’Elevage en zone Subhumide (CIRDES) 01 B.P. 454 – Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

² Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), Mali

³ Université Libre de Berlin, Allemagne

⁴ DNE / IRAG, Guinée

⁵ Unité Centrale de Lutte contre la Trypanosomose (UCLT) de Bamako, Mali

⁶ International Livestock Research Institute (ILRI) Nairobi, Kenya

⁷ Université d’Hannover, Allemagne

⁸ Agri-Veterinary Intelligence and Analysis (Avia GIS), Belgique

⁹ Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar, Sénégal

¹⁰ Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

* Correspondance et tirés à part, e-mail : talakiessodina@yahoo.fr

Résumé:

Des enquêtes transversales (2002-2004) réalisées dans 89 villages, ont porté sur 5 474 bovins et 1 908 glossines (*G. palpalis gambiensis*: 53% ; *G. tachinoides*: 45% et *G. morsitans submorsitans*: 2%) qui ont été capturées. Suite à ces enquêtes, plusieurs villages suspects ont fait l’objet d’enquêtes longitudinales pour mettre en évidence les échecs de traitements aux trypanocides (chlorure d’isométymidium et acéturate de diminazène) sur des bovins. L’analyse spatiale des résultats dénote une hétérogénéité dans la répartition de la maladie. L’ampleur du phénomène décroît de l’Est à l’Ouest de la zone étudiée. Au Mali, la prévalence parasitologique moyenne est de 4,5% pour une valeur maximale de 22% contre une prévalence moyenne de 2,8% pour une valeur maximale de 11,7% en Guinée. Les infections au Mali sont dues à *T. congolense* (49%) et *T. vivax* (51%). Celles de la Guinée se caractérisent par la prédominance de *T. brucei* (59%) suivi de *T. congolense* (36%) et *T. vivax* (5%). Sur le plan entomologique, on note l’absence de *G. morsitans submorsitans* dans la partie Est au Mali, alors qu’en Guinée c’est *G. tachinoides* qui est absente. Différents niveaux de chimiorésistance ont été identifiés dans la zone.

Mots clés : Trypanosomoses animales, chimiorésistance, Afrique de l’Ouest.

**Spatial distribution of the animal's trypanosomoses in relation with the chemoresistance in the cotton belt of the West Africa
(Mali and Guinea)**

Abstract:

Cross sectional surveys (2002-2004) achieved in 89 villages, were carried on 5 474 cattle and 1 908 captured tsetse flies (*G. palpalis gambiensis*: 53%; *G. tachinoides*: 45% and *G. morsitans submorsitans*: 2%). Following these investigations, several suspected villages have been chosen for longitudinal surveys in order to detect the failures of treatments to the trypanocides (isometamidium chloride and diminazene aceturate) on cattle. The spatial analysis of the results shows heterogeneity in the distribution. The size of the phenomenon decreases from the East to the West of the study area. In Mali, the average parasitological prevalence is 4.5% for a peak value of 22% against an average prevalence of 2.8% for a peak value of 11.7% in Guinea. The infections in Mali are caused by *T. congolense* (49%) and *T. vivax* (51%). Those of Guinea are characterized by the predominance of *T. brucei* (59%) followed by *T. congolense* (36%) and *T. vivax* (5%). On the entomological plan, one notices the absence of *G. morsitans submorsitans* in the East part in Mali, while *G. tachinoides* was absent in Guinea. Different levels of chemoresistance have been identified in the study area.

Keywords: Animal's trypanosomoses, chemoresistance, West Africa.

Introduction

Les trypanosomoses animales africaines (TAA) demeurent une des contraintes majeures au développement de l'élevage en Afrique subsaharienne. Les stratégies de lutte contre ces maladies consistent à agir soit sur le vecteur, soit à utiliser la résistance naturelle de certains animaux en y associant la gestion des parcours afin d'éviter le contact avec les glossines, soit enfin à agir sur l'agent causal par l'utilisation des trypanocides. La lutte contre les vecteurs étant difficile, la chimiothérapie reste le moyen le plus utilisé dans la lutte contre ces maladies. Cependant, cette chimiothérapie s'appuie sur des molécules anciennes et en nombre réduit (GEERTS et HOLMES, 1998) dont l'utilisation répétée et parfois inappropriée, a conduit dans certaines régions à l'émergence de la chimiorésistance des trypanosomes (EISLER *et al.*, 2000). Au Burkina Faso, et plus particulièrement dans la province du Kéné Dougou, la résistance aux trypanocides a pu être identifiée dans la zone pastorale de Samorogouan (CLAUSEN *et al.*, 1992) puis dans d'autres localités dans le cadre des activités de la première phase du projet BMZ (DIARRA, 2001 ; McDERMOTT *et al.*, 2000 ; OUEDRAOGO, 2002). Par contre, la situation épidémiologique de ce phénomène restait peu ou pas du tout connue dans le reste de la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest.

C'est dans ce sens que, la présente étude a été entreprise dans la seconde phase du projet ILRI/BMZ, qui est financé par la Coopération allemande et exécuté par l'ILRI en partenariat avec plusieurs institutions de recherche et de développement nationales ou internationales dont le CIRDES au Burkina-Faso.

1- Matériel et méthodes

1.1- Zone d'étude

La zone d'étude regroupe le cercle de Sikasso (Sikasso-Est et Sikasso-Ouest) et le cercle de Bougouni-Yanfolila au Mali et la préfecture de Mandiana en Guinée (figure 1). Il s'agit d'une zone subhumide caractérisée par une forte culture cotonnière.

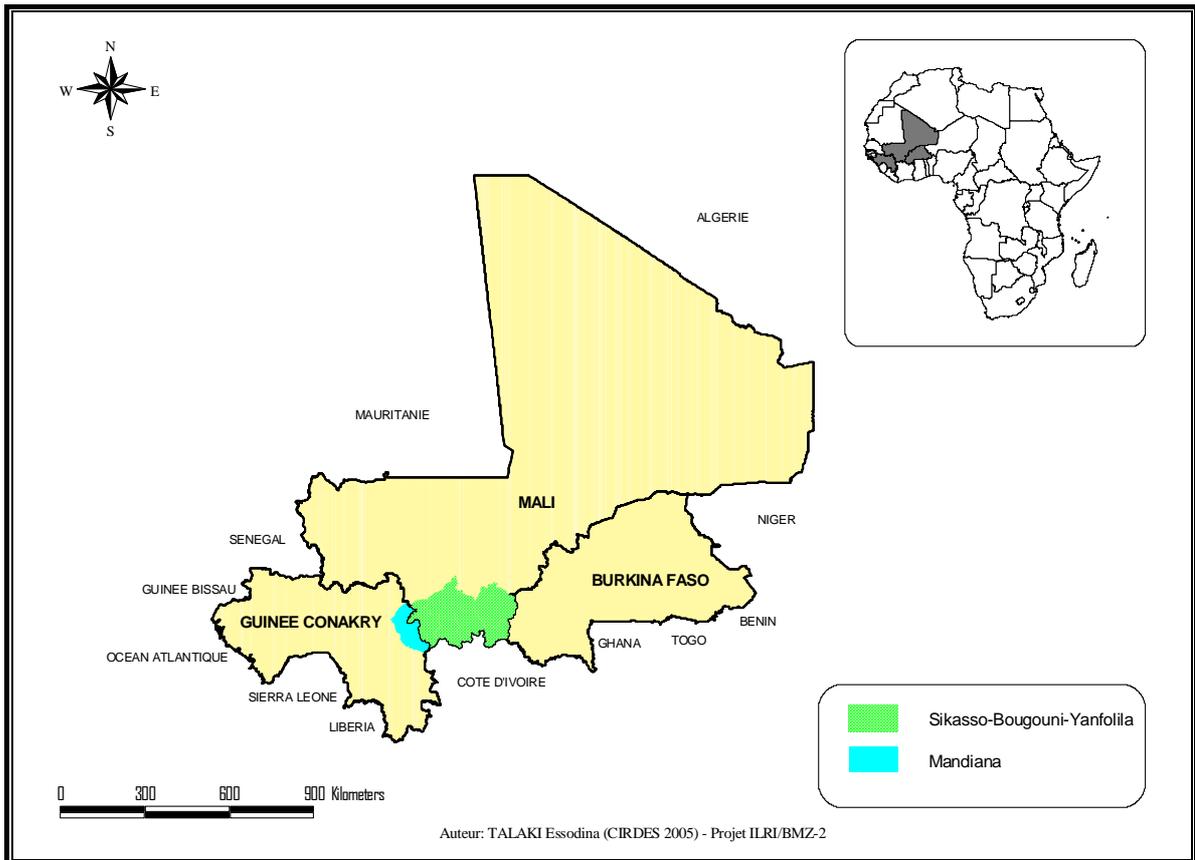


Figure 1: Zone d'étude

1.2- Méthodes

L'étude a été menée en deux grandes phases : l'une transversale et l'autre longitudinale.

1.2.1- Enquêtes transversales

Elles ont été conduites de Septembre 2002 à Juillet 2004. Dans un premier temps, elles ont eu lieu de Septembre à Octobre 2002 dans la préfecture de Mandiana (Guinée) et dans la zone de Sikasso-Est (Mali). Dans un second temps, compte tenu de la méconnaissance de la situation épidémiologique des TAA dans la zone intermédiaire entre Sikasso-Est et Mandiana, une autre série d'études transversales a été menée (de Mai à Juin 2004) dans cette zone couvrant Sikasso-Ouest,

Bougouni et Yanfolila. Toutes ces enquêtes avaient pour objectif d'identifier des foyers potentiels de chimiorésistance et aussi d'évaluer les facteurs favorisant l'apparition de la chimiorésistance dans les localités à savoir le risque trypanosomien (prévalence des infections chez les bovins, densité et taux d'infection des mouches tsé-tsé) et les pratiques d'utilisation des produits trypanocides. Elles ont porté sur un total de 5 474 bovins dans 89 villages dont 59 villages au Mali et 30 villages en Guinée.

1.2.1.1- Méthode d'échantillonnage

Le choix des sites a été fait après un recensement des villages à l'intérieur de la zone d'étude pour assurer la représentativité de l'échantillon. Les villages à faible effectif bovin (< 60 têtes) ou ceux pour lesquels les données épidémiologiques disponibles ne permettent pas de prévoir un risque important de trypanosomoses animales ou ceux qui sont d'accès très difficile, ont été écartés. Pour les villages éligibles, un échantillonnage systématique « à pas » a permis de retenir les villages tout en procédant à une stratification de façon à ce que toutes les entités de la zone à étudier soient représentées proportionnellement au nombre de villages qui les composent.

Pour chaque village retenu, un échantillon de 50 à 80 bovins âgés de plus d'un an a été constitué. Le choix du matériel animal a été aussi aléatoire que possible. Chaque troupeau du village a été représenté dans l'échantillon proportionnellement à son importance numérique pour que l'échantillon soit représentatif du cheptel bovin villageois.

1.2.1.2- Enquêtes parasitologiques

Pour chaque animal faisant partie de l'échantillon, du sang a été prélevé à la veine jugulaire dans un tube « vacutainer » à EDTA (Acide éthylène-diamine-tétracétique) comme anticoagulant, et conservé sous glace avant examen microscopique. La mesure de l'hématocrite (Packed Cell Volume : PCV) et la recherche microscopique des trypanosomes vivants ont été réalisées par le « Buffy

Coat Technique » (MURRAY *et al.* 1977) dans un délai maximum de 4 heures. Des renseignements sur l'état corporel des animaux de l'échantillon ont été relevés.

1.2.1.3- Enquêtes entomologiques

Elles ont été conduites en même temps que les enquêtes parasitologiques dans le but de déterminer les espèces de glossines présentes, leurs densités apparentes par piège (DAP) et leurs taux d'infection par les trypanosomes après dissection. Dix (10) pièges de capture de type Challier-Laveissière ont été placés par localité et par type d'habitat (galerie et savane) pour une durée de 08 ou 24 heures.

1.2.1.4- Traitements trypanocides

Un questionnaire a été administré pour recueillir des informations sur les traitements trypanocides comme le type de produit utilisé et la date du dernier traitement. Les animaux positifs ayant fait l'objet de ces enquêtes ont été traités par notre équipe avec de l'acéturate de diminazène à la dose de 3,5 mg/kg par injection intramusculaire.

1.2.2- Enquêtes longitudinales

Elles ont été conduites à la suite des enquêtes transversales. Une prévalence parasitologique supérieure ou égale à 10% a été le critère de sélection des sites suspects pour ces enquêtes longitudinales. Un certain nombre de villages en dessous de ce seuil ont été exceptionnellement repêchés pour cette étude longitudinale dans les zones à faible prévalence. Elles avaient pour objectif de mettre en évidence des échecs de traitements dans les sites révélés suspects lors des enquêtes transversales. Il s'agit d'un suivi parasitologique réalisé sur deux lots de 40 à 50 bovins par le « Buffy Coat Technique » (BCT) toutes les deux semaines pendant 28 ou 56 jours. Le premier lot ayant reçu un traitement à l'isomémidium (ISMM) à la dose de 1mg/kg et le second lot ayant servi de lot témoin. La comparaison de l'incidence de la maladie entre ces deux lots, a été faite à l'aide du test de χ^2 au seuil 5% pour l'étude sur la chimiorésistance.

1.3- Analyse de données

Les données ont été saisies dans le logiciel Excel puis l'analyse a été faite avec les logiciels Excel et Arc-view GIS 3.2. Les logiciels Arc-view 3.2 et Map Info Professional 7.0 ont servi à l'établissement des cartes.

2- Résultats et discussions

2.1- Prévalences parasitologiques

La figure 2 montre les différents niveaux d'infection aux trypanosomoses animales. Elle indique une hétérogénéité spatiale. Au Mali, sur 59 villages étudiés, 13,6% ont une forte prévalence ($\geq 10\%$), alors qu'à Mandiana seuls 02 villages sur 30 étudiés (soit un taux de 6,7%) ont eu une prévalence supérieure ou égale à 10%. Le Mali a enregistré une prévalence parasitologique moyenne de 4,5% contre une moyenne de 2,8% dans la zone de Mandiana en Guinée. La distribution spatiale des résultats montre une décroissance de la prévalence de la maladie de l'Est à l'Ouest. Sikasso-Est constitue la partie la plus affectée avec une prévalence parasitologique moyenne de 6,3% et une valeur maximale de 22% enregistrée à Bamadougou. Dans la partie Sikasso-Ouest, la prévalence moyenne de 5% a été obtenue avec une valeur maximale de 12,9% enregistrée à Bazana. La situation dans le reste de la zone d'étude au Mali (Bougouni-Yanfolila) s'apparente à celle retrouvée à Mandiana en Guinée avec des prévalences inférieures à 10% dans la plupart des villages (figure 2). La prévalence parasitologique moyenne obtenue est à peu près la même (2,9% dans la zone Bougouni-Yanfolila et 2,8% à Mandiana) pour une valeur maximale de 11,7% obtenue à la fois à Faraba (Bougouni) et à Dialakoro (Mandiana) (figures 2 et 3). Statistiquement, au seuil de 5%, la situation observée à Sikasso-Est et Sikasso-Ouest est la même alors qu'elle est bien différente de celle observée dans les zones de Bougouni-Yanfolila et de Mandiana (tableau I). Ces prévalences ont été obtenues sur la base des résultats parasitologiques par la technique parasitologique classique (BCT). Cette technique utilisée, est reconnue être sensible pour un diagnostic de terrain et permet d'identifier de façon rapide les

animaux dont les parasitémies sont de l'ordre de 300 à 700 trypanosomes par ml (CAMUS, 1983 ; UILENBERG, 1998 ; VERY et *al.*, 1990). Cependant, des parasitémies peuvent être faibles et échapper à cet examen direct (DESQUESNES et DE LA ROCQUE, 1995 ; McLENNAN, 1971 ; WHITELAW et *al.*, 1988). Par ailleurs, des analyses complémentaires par PCR (Polymérase Chain Reaction) avec les amorces spécifiques des parasites pourraient permettre d'indiquer des prévalences pouvant atteindre 2,5 fois supérieures à celles décelées par la technique parasitologique classique (DESQUESNES et *al.*, 1999 ; MASIGA et *al.*, 1992 ; SOLANO et *al.* 1999).

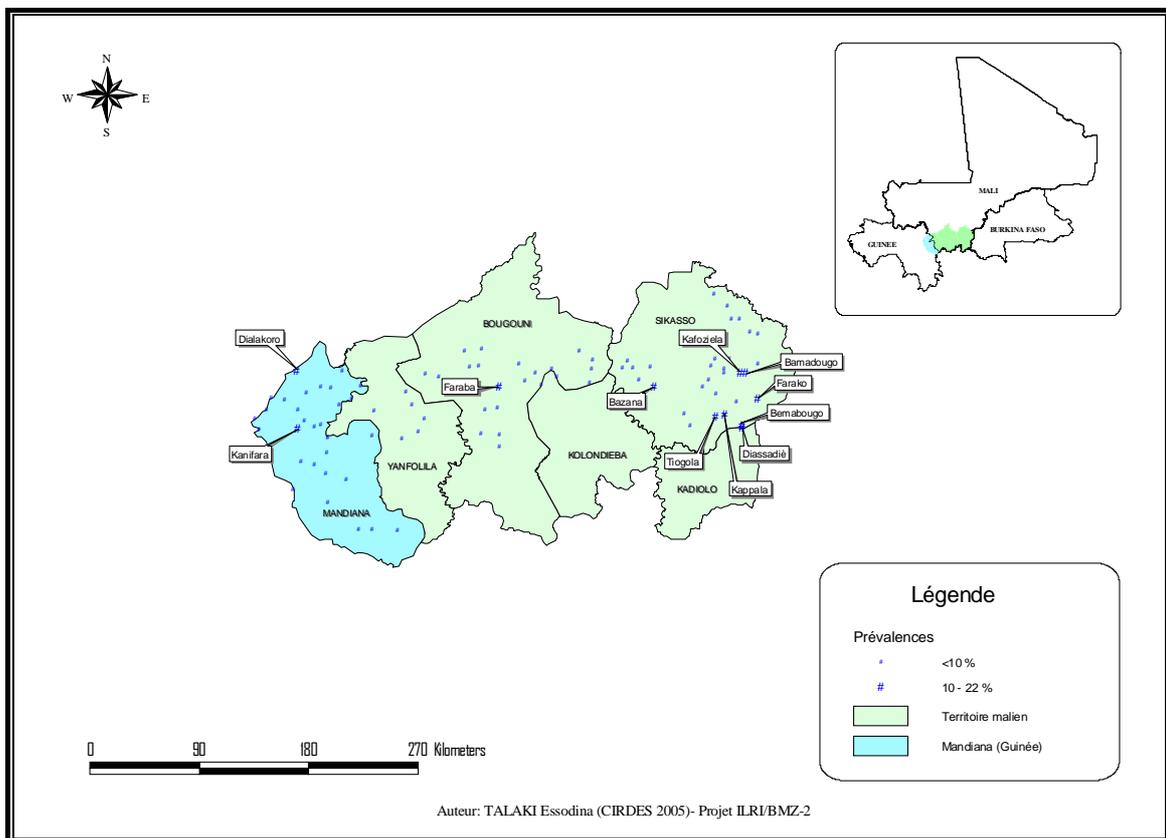


Figure 2 : Prévalence des TAA chez les bovins

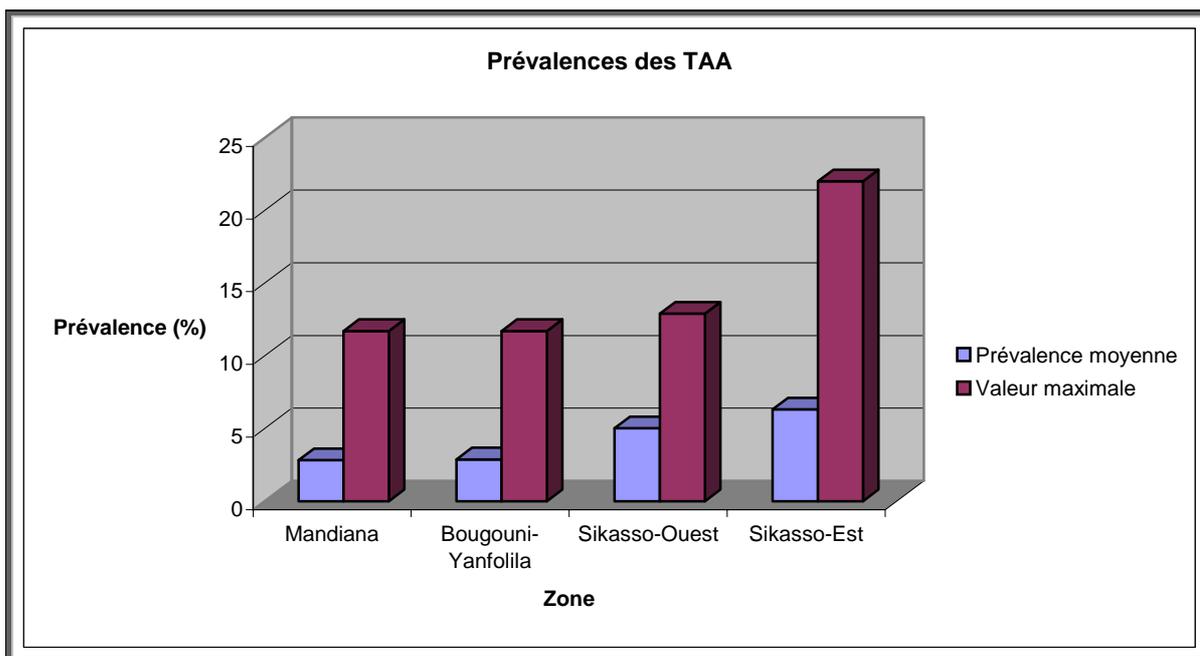


Figure 3 : Prévalences des TAA

Tableau I : Comparaison des prévalences moyennes entre les différentes zones
(Khi deux au seuil 5%)

Zone	Sikasso-Est	Sikasso-Ouest	Bougouni-Yanfolila	Mandiana
Sikasso-Est	-	<i>Khi deux = 1,131</i> <i>Différence non significative</i>	Khi deux = 21,916 Différence Significative	Khi deux = 20,842 Différence Significative
Sikasso-Ouest	<i>Khi deux = 1,131</i> <i>Différence non significative</i>	-	Khi deux = 4,515 Différence Significative	Khi deux = 4,469 Différence Significative
Bougouni-Yanfolila	Khi deux = 21,916 Différence Significative	Khi deux = 4,515 Différence Significative	-	<i>Khi deux = 0,001</i> <i>Différence non significative</i>
Mandiana	Khi deux = 20,842 Différence Significative	Khi deux = 4,469 Différence Significative	<i>Khi deux = 0,001</i> <i>Différence non significative</i>	-

2.2- Espèces de trypanosomes

Trois espèces de trypanosomes pathogènes ont été rencontrées : *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma vivax* et *Trypanosoma brucei*. Cependant, la répartition des différentes espèces n'est pas la même. Sur un total de 5 474 bovins examinés, 206 infections ont été enregistrées avec parfois des infections mixtes. Au Mali, ces infections sont dues à *Trypanosoma congolense* dans 49% des cas et à *Trypanosoma vivax* dans 51% des cas. Ces résultats obtenus au Mali, se rapprochent plus de ceux des travaux antérieurs réalisés au Burkina Faso dans la zone de Sidéradougou (DESQUESNES et al., 1999) et dans la province du KénéDougou (DIARRA, 2001), où *Trypanosoma vivax* et *Trypanosoma congolense* sont rapportés être les deux principales espèces de trypanosomes rencontrées avec parfois la présence de *Trypanosoma brucei*. Par contre, les infections enregistrées dans le cas de notre étude en Guinée, se caractérisent par la prédominance de *Trypanosoma brucei* enregistré dans 59% des cas, suivi de *Trypanosoma congolense* rencontré dans 36% des cas et enfin de *Trypanosoma vivax* avec 5% de cas (figure 4). En effet, la population bovine à Mandiana est presque totalement constituée de taurins N'Dama reconnus pour leur caractère trypanotolérant. De ce fait, ces animaux pourraient facilement héberger *Trypanosoma brucei* peu pathogène, sans expression de signes cliniques de la maladie, limitant ainsi le besoin des traitements aux infections causées par les autres espèces plus pathogènes.

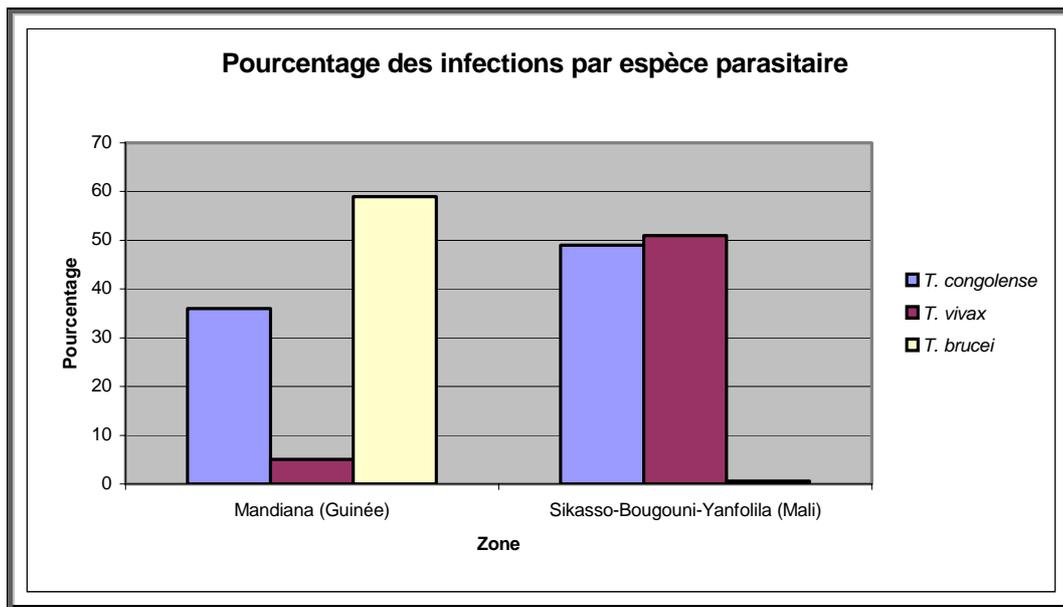


Figure 4 : Pourcentage des infections par espèce parasitaire

2.3- Hématocrite (Packed Cell Volume: PCV)

Les valeurs moyennes des PCV enregistrées par zone ainsi que les intervalles de confiance sont consignés dans le tableau II. Le PCV moyen calculé par zone varie entre $24,1 \pm 0,085$ et $29,9 \pm 0,075$ et croit progressivement de l'Est à l'Ouest. La comparaison entre ces valeurs moyennes démontre qu'il n'y a pas de différence significative (seuil 5%) entre le PCV moyen enregistré à Sikasso-Ouest et dans la zone Bougouni-Yanfolila. Cependant, ce PCV moyen diffère significativement entre les autres zones (tableau III). Cette variation de ces valeurs moyennes pourrait s'expliquer d'une part, par la décroissance de la prévalence de l'Est à l'Ouest de la zone, et d'autre part, par le type de bétail élevé dans chaque zone. En effet, en se déplaçant de l'Est à l'Ouest de la zone, l'introduction du sang N'Dama dans la population bovine devient de plus en plus importante et qu'à Mandiana (Guinée) le bétail devient essentiellement constitué de la race N'Dama reconnue pour son caractère trypanotolérant.

Le degré d'anémie, établi par la méthode du micro-hématocrite, est une mesure fiable de l'état général d'un animal atteint de trypanosomoses (MURRAY et

DEXTER, 1988). Cependant, plusieurs facteurs comme l'alimentation et certaines parasitoses (par exemple : helminthoses, babésiose et présence de tiques) peuvent affecter la valeur de l'hématocrite d'un animal ; et que, même chez le bétail trypanotolérant, le degré d'anémie développé dépend de l'état nutritionnel et de l'âge de l'animal (AGYEMANG et *al.*, 1991 ; AGYEMANG et *al.*, 1990 ; KAUFMANN et *al.*, 1992).

Tableau II: PCV moyen enregistré par zone

Zone	Nombre de villages	Nombre de bovins	PCV moyen	Déviations standard	Intervalle de confiance ($\alpha=0,05$)
Sikasso-Est	25	1238	24,1	1,534	24,1 \pm 0,085
Sikasso-Ouest	6	435	27,2	2,079	27,2 \pm 0,195
Bougouni-Yanfolila	28	2001	27,3	1,546	27,3 \pm 0,068
Mandiana	30	1800	29,9	1,620	29,9 \pm 0,075

Tableau III: Comparaison des PCV moyens par zone (écart réduit au seuil 5%)

Zone	Sikasso-Est	Sikasso-Ouest	Bougouni-Yanfolila	Mandiana
Sikasso-Est	-	Différence significative	Différence significative	Différence significative
Sikasso-Ouest	Différence significative	-	<i>Différence non significative</i>	Différence significative
Bougouni-Yanfolila	Différence significative	<i>Différence non significative</i>	-	Différence significative
Mandiana	Différence significative	Différence significative	Différence significative	-

2.4- Entomologie

Au total, 1 908 glossines ont été capturées avec une prédominance de *Glossina palpalis gambiensis* qui représente 53% des captures, suivi de *Glossina tachinoides* (45%) et enfin de *Glossina morsitans submorsitans* (2%). Ces résultats entomologiques présentent aussi une hétérogénéité dans leur répartition spatiale. Deux espèces riveraines (*Glossina palpalis gambiensis* et *Glossina tachinoides*) et une espèce de savane (*Glossina morsitans submorsitans*) ont été capturées. *Glossina palpalis gambiensis* est retrouvée dans toute la zone et constitue l'unique espèce capturée dans la zone de Sikasso-Ouest (DAP = 2,48) et l'espèce majoritaire dans la zone Bougouni-Yanfolila (DAP = 1,38) et à Mandiana (DAP = 1,23). *Glossina tachinoides* quant à elle, n'a été capturée que du côté du territoire malien avec une densité apparente par piège de 2,74 à Sikasso-Est et de 0,64 dans la zone Bougouni-Yanfolila. Enfin, pour l'espèce de savane (*Glossina morsitans submorsitans*), une densité apparente par piège de 0,09 a été obtenue à Mandiana (figure 5). Signalons que dans la zone intermédiaire (Sikasso-Ouest et Bougouni-Yanfolila), il n'y a pas eu de piégeage dans la savane sur la base des connaissances antérieures. Six (06) femelles *Glossina morsitans submorsitans* ont été capturées en galerie dans la zone Bougouni-Yanfolila.

Concernant ces résultats entomologiques, il convient de préciser que la non capture d'une espèce de glossines dans une zone ne devrait automatiquement pas conclure à l'absence de ladite espèce dans cette zone. Il peut s'agir d'absence réelle de l'espèce concernée ou de densités situées sous le seuil mesurable (HENDRICKX et NAPALA, 1999). Néanmoins, ces résultats confirment le constat déjà fait sur la régression de la seule espèce de savane historiquement présente au Mali qui est *Glossina morsitans submorsitans* (DJITEYE, 1997).

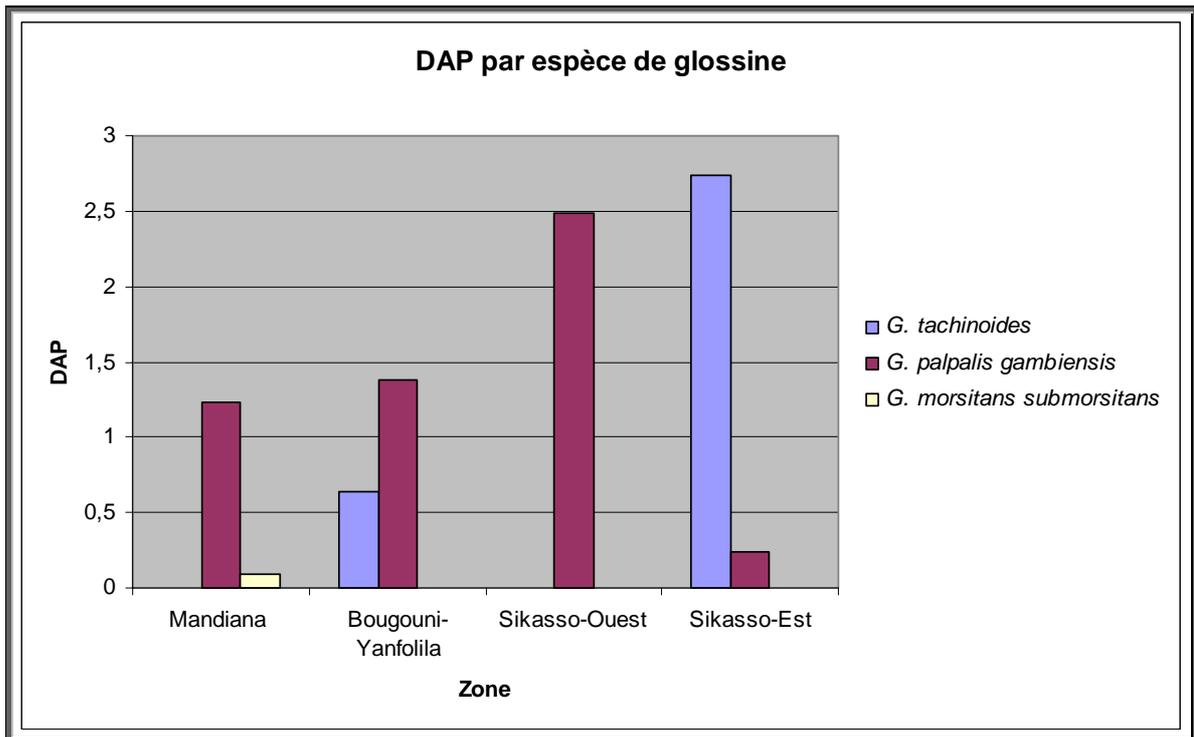


Figure 5 : Densité apparente par piège (DAP) par espèce de glossine

2.2- Chimiorésistance

La chimiorésistance est définie comme la perte héritable de sensibilité d'une population de micro-organismes à un produit auquel elle était préalablement sensible. Les résultats sur la chimiorésistance ont été obtenus à la suite des enquêtes longitudinales menées pour mettre en évidence les échecs de traitement. Au total 19 villages (13 villages à Sikasso-Est, 03 villages dans la zone Bougouni-Yanfolila et 03 villages à Mandiana) ont fait l'objet de l'étude de la chimiorésistance. Sur ces 19 villages, les résultats ont révélé la présence de la chimiorésistance à l'isoméamidium (ISMM) dans 07 villages (04 villages à Sikasso, 02 villages dans la zone Bougouni-Yanfolila et 01 village à Mandiana) soit environ plus du 1/3 des villages étudiés. Ces mêmes résultats ont conclu une suspicion de chimiorésistance dans 08 villages (06 villages à Sikasso, 01 village dans la zone Bougouni-Yanfolila et 02 villages à Mandiana). Il s'agit d'une suspicion, car de nouveaux cas ont été enregistrés dans le lot traité à l'ISMM avant 28 ou 56 jours mais la différence

observée entre l'incidence dans le lot traité et dans le lot non traité n'est pas significative (seuil 5%). Une absence de chimiorésistance est révélée dans 04 villages dans la préfecture de Sikasso sur un total de 14 villages étudiés (figures 6 et 7). Dans ces 04 localités, la différence de l'incidence entre les deux groupes d'animaux (traités et non traités) est significative au seuil 5%.

L'analyse statistique des données issues d'enquêtes longitudinales, basées sur le traitement et le suivi des infections de deux lots de bovins naturellement exposés nous a permis de faire une évaluation de la résistance à l'ISMM. Toutefois, la sensibilité du test pourrait être améliorée en ciblant la période de forte transmission et/ou en augmentant la taille de l'échantillon (100 bovins par lot).

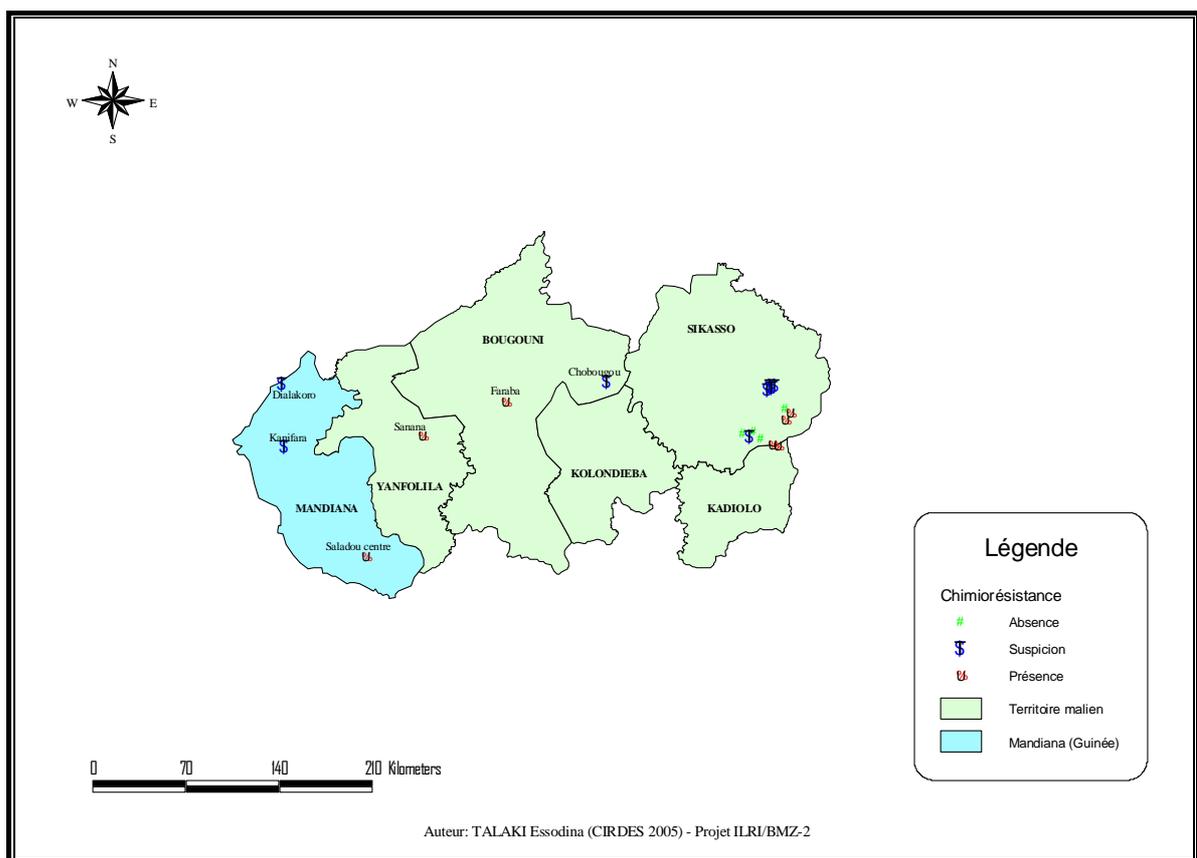


Figure 6 : Chimiorésistance à l'ISMM dans la ceinture cotonnière au Mali et en Guinée

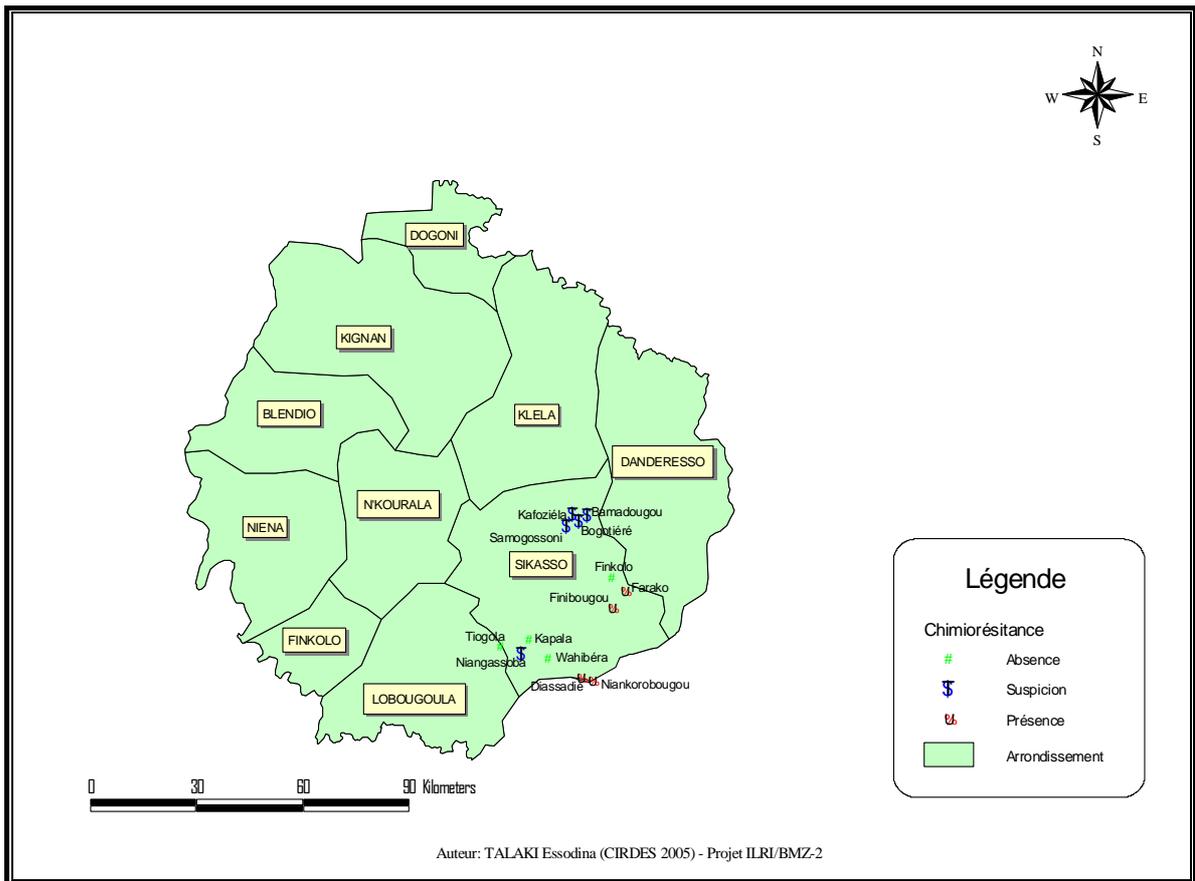


Figure 7 : Chimiorésistance à l’ISMM dans la zone de Sikasso

Conclusion

Cette étude décrit la situation épidémiologique des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la ceinture cotonnière de l’Afrique de l’Ouest allant du Mali (Sikasso) jusqu’en Guinée (Mandiana). La répartition spatiale montre un gradient décroissant de la maladie de l’Est à l’Ouest de la zone. Cependant, la chimiorésistance à l’isométamidium a été révélée dans les zones à hautes et à basses prévalences.

Références bibliographiques

AGYEMANG K., DWINGER R.H., LITTLE D.A. et al., 1991. Interaction between physiological status in N'Dama cows and trypanosome infections and its effect on health and productivity of cattle in Gambia. *Acta Tropica*, **50**: 91-99.

AGYEMANG K., DWINGER R.H., TOURAY B.N. et al., 1990. Effects of nutrition on degree of anaemia and live weight in N'Dama cattle infected with trypanosomes. *Livest. Prod. Sci.*, **26**: 39-51.

CAMUS E., 1983. Diagnostic de la trypanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hématocrite. *Rev. sc. tech. Off. int. Epiz.*, **2** : 751-769.

CLAUSEN P-H., SIDIBE I., KABORE I. et BAUER B., 1992. Development of multiple drug resistance of *Trypanosoma congolense* in Zebu cattle under high natural tsetse fly challenge in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso. *Acta Tropica*, **51**: 229-236.

DESQUESNES M. et DE LA ROCQUE S., 1995. Comparaison de la sensibilité du test de WOO et d'un test de détection des antigènes de *Trypanosoma vivax* chez les moutons expérimentalement infectés avec une souche guyanaise du parasite. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **48** : 247-253.

DESQUESNES M., MICHEL J.F., DE LA ROCQUE et al., 1999. Enquête parasitologique et sérologique (Elisa-indirect) sur les trypanosomoses des bovins dans la zone de Sidéradougou, Burkina Faso. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52** (3-4) : 223-232.

DIARRA B., 2001. Caractérisation de la sensibilité à l'isométnidium et au diminazène des phénotypes de trypanosomes isolés dans la province du Kéné Dougou au Burkina Faso. Thèse de doctorat de 3^e cycle, Parasitologie ; N° 253, UCAD-FST.

DJITEYE A., MOLOO S.K., FOUA BI K. et al., 1997. Réactualisation des données sur la répartition des glossines au Mali. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 50 (2): 126-132.

EISLER M.C., NDUNG'U J.M., MURILLA G.A. et al., 2000. Area-wide appraisal of drug resistance in trypanosomes infecting cattle in East and Southern Africa. *ICPTV*, 2: 16-18.

GEERTS S. et HOLMES P.H., 1998. Drug management and parasite resistance in bovine trypanosomiasis in Africa. PAAT Technical Sciences Series, N° 1 FAO, Rome, 31 p.

HENDRICKX G. et NAPALA A., 1999. Le contrôle de la trypanosomose «à la carte» : une approche intégrée basée sur un Système d'Information Géographique. Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales, Mémoire in-8°, Nouvelle Série, Tome 24, fasc. 4, Bruxelles.

KAUFMANN J., DWINGER R.H., HALLEBEEK A. et al., 1992. The interaction of *Trypanosoma congolense* and *Haemonchus contortus* infections in trypanotolerant N'Dama cattle. *Vet. Parasitol.*, 43: 157-170.

MASIGA D.K., SMYTH A.J., HAYES P. et al., 1992. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.*, 22: 909-912.

McDERMOTT J.J., SIDIBE I., BAUER B. et al., 2000. Field studies on the development and impact of drug resistant animal trypanosomes in market-oriented production systems in the southern Guinean Zone of West Africa. *ICPTV*, 2: 18-21.

McLENNAN K.J.R., 1971. The apparatusemic interval following diminazene aceturate therapy of a relapsing strain of *T. vivax* infecting cattle. *Trop. Anim. Health Prod.*, 3: 208-212.

MURRAY M. et DEXTER T.M., 1988. Anaemia in bovine African trypanosomiasis. *Acta Tropica*, 45: 389-432.

MURRAY M., MURRAY P.K. et Mc INTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, **71**: 325-326.

OUEDRAOGO D., 2002. Analyse socio-économique des pratiques de gestion de la trypanosomose animale et les facteurs associés au développement de la chimiorésistance dans la province de Kéné Dougou (Burkina Faso). Thèse de doctorat unique es-sciences économiques, Université de Ouagadougou -UFR/SEG.

SOLANO P., MICHEL J.F., LEFRANCOIS T. et al., 1999. Polymerase Chain Reaction as diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Vet. Parasitol.*, **86**: 95-103.

UILENBERG G., 1998. A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomosis. Rome, Italie, FAO, 158 p.

VERY P., BOCQUENTIN R. et DUVALLET G., 1990. Sensibilité de la double microcentrifugation pour la recherche des trypanosomes. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **43**: 325-329.

WHITELAW D.D., GARDINER P.R. et MURRAY M., 1988. Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eyes as potential source of relapse infection after chemotherapy. *Parasitol.*, **97**: 51-61.

Remerciements

Nous tenons à remercier:

- la Coopération Allemande qui a financé cette étude sous le projet ILRI/BMZ-2 ;
- International Livestock Research Institute (ILRI) qui est l'institut coordonnateur du projet ;

- le Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) et les autres institutions de recherche et de développement partenaires de l'ILRI pour l'exécution dudit projet ;
- les Docteurs DAO B. B. et ADAKAL H. pour les remarques et suggestions apportées au manuscrit.

Variations saisonnières et facteurs de risques des trypanosomoses animales dans un contexte de chimiorésistance dans la zone de Sikasso au Mali

Talaki E.^{1*}, Sidibé I.¹, Diall O.², Belem A.M.G.³, Pangui L.J.⁴, Affognon H.⁵, Grace D.⁶, Djiteye A.², Bocoum Z.², Diarra B.⁷

¹ Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) 01 B.P. 454 – Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

² Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), Mali

³ Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

⁴ EISMV de Dakar, Sénégal

⁵ Université d'Hannover, Allemagne

⁶ Université Libre de Berlin, Allemagne

⁷ Unité Centrale de Lutte Contre la Trypanosomose (UCLT) de Bamako, Mali

* Correspondance et tirés à part, e-mail : talakiessodina@yahoo.fr

Résumé :

Une série de trois enquêtes longitudinales sur des bovins a été conduite entre Août 2003 et Avril 2004 dans 11 sites du cercle de Sikasso au Mali. Ces enquêtes avaient pour objectif de faire une étude épidémiologique saisonnière des trypanosomoses animales dans un contexte de chimiorésistance aux trypanocides. Du point de vue parasitologique, il existe une hétérogénéité dans l'évolution de la maladie. De fortes prévalences parasitologiques ont été enregistrées au mois d'Août correspondant à la saison pluvieuse, dans les sites de Diassadiè (34%) et de Wahibéra (28,89%). Ces deux villages ont été les seuls à présenter une variation saisonnière significative (au seuil 5%) des valeurs de prévalences observées. Les infections sont majoritairement dues à *Trypanosoma congolense* enregistré dans 64,81 à 67,12% des cas, suivi de *Trypanosoma vivax* rencontré dans 28,77 à 35,19% des infections et rarement de *Trypanosoma brucei* avec 1,37% de cas. La valeur moyenne de l'hématocrite en saison pluvieuse était la plus forte (26,49% \pm 0,43) avec une variation saisonnière significative. Sur le plan entomologique, deux espèces de glossines riveraines ont été identifiées en toute saison avec des densités apparentes par piège (DAP) allant de 3,45 à 5,29 pour l'espèce *Glossina palpalis gambiensis* et variant entre 0,98 et 2,80 pour *Glossina tachinoides*. Une corrélation significative ($\alpha=0,05$) entre la densité apparente de *Glossina palpalis gambiensis* et le taux d'infection des bovins a été observée en saison pluvieuse. Des échecs de traitement (résistance) à l'acéturate de diminazène ont été suspectés dans plusieurs sites.

Mots clés : Saison, trypanosomoses, chimiorésistance, Sikasso, Mali.

Seasonal variations and factors of risks of the animal trypanosomoses in a chemoresistance context in the Sikasso area in Mali

Abstract:

A set of three longitudinal surveys was carried out on cattle between August 2003 and April 2004 in 11 sites at Sikasso in Mali. The goal was to make a seasonal epidemiological assessment of the animal trypanosomoses in a chemoresistance context. From a parasitological viewpoint, heterogeneity exists in the evolution of the disease. High parasitological prevalences were recorded during the rainy season (August) at Diassadiè (34%) and at Wahibéra (28.89%). These two villages were the only to present a significant seasonal variation (threshold 5%) of the observed prevalence values. The infections were mostly caused by *Trypanosoma congolense* (64.81 - 67.12%), followed by *Trypanosoma vivax* (28.77 - 35.19%) and rarely by *Trypanosoma brucei* (1.37%). The hematocrit average value was the highest in the rainy season ($26.49\% \pm 0.43$) with a significant seasonal variation. Entomologically, two species of tsetse flies were identified during all seasons with apparent fly densities per trap (DAP) of 3.45 to 5.29 for *Glossina palpalis gambiensis* and 0.98 to 2.80 for *Glossina tachinoides*. A significant correlation ($\alpha = 0.05$) between the density of *Glossina palpalis gambiensis* and the rate of infection on the cattle was observed during the rainy season. Diminazene aceturate treatment failures (resistance) were suspected in several sites.

Keywords: Season, trypanosomoses, chemoresistance, Sikasso, Mali.

Introduction

En Afrique Subsaharienne et plus particulièrement en zone subhumide cotonnière de l'Afrique de l'Ouest, l'élevage joue un rôle important dans les systèmes de production agricole. Cet élevage est généralement pratiqué en mode extensif et en exploitation de type familial où les normes rationnelles de conduite de troupeau sont presque reléguées au second plan. Considéré comme une importante source de revenu pour les populations rurales à travers la vente du bétail, il fournit de la fumure pour les champs et intervient également dans le portage et la traction attelée (JAEGER et MALTON, 1990). Toutefois, sa productivité est entravée par les trypanosomoses qui constituent un problème majeur à la fois de santé et de développement affectant les hommes et les animaux. Chez l'homme, la trypanosomose humaine africaine ou maladie du sommeil sévit sous une forme endémo-épidémique. Quant aux trypanosomoses animales africaines (TAA), elles restent largement répandues. Dans la lutte contre ces trypanosomoses animales, la chimiothérapie reste le moyen le plus utilisé. Cette méthode s'appuie sur des molécules anciennes et en nombre limité (GEERTS et HOLMES, 1998) dont les utilisations répétées et parfois anormales ont favorisé l'apparition de la chimiorésistance des trypanosomes dans certaines régions (EISLER et *al.*, 2000 ; PINDER et AUTHIE, 1984 ; KUPPER et WOLTERS, 1983). Les glossines (*Glossina sp.*) qui en sont les principaux vecteurs occupent généralement de meilleures terres. Au Mali, 17 % du territoire national, soit une superficie d'environ 240 000 km² est concernée par ce fléau. Le cercle de Sikasso, qui est une zone frontalière avec le Burkina Faso et caractérisé par une importante culture cotonnière, est fortement touché. Comme dans la province du Kéné Dougou au Burkina Faso, plusieurs études menées dans certaines localités de cette zone ont révélé l'existence de la résistance des trypanosomes aux trypanocides (TALAKI et *al.*, 2006 ; McDERMOTT et *al.*, 2000 ; CLAUSEN et *al.*, 1992 ; AUTHIE, 1984). Le présent travail, conduit dans le cadre du projet ILRI/BMZ-2, se propose de faire une étude saisonnière des trypanosomoses animales dans un contexte de chimiorésistance dans la région de Sikasso au Mali.

1- Matériel et méthodes

1.1- Zone d'étude

Cette étude a été réalisée dans une portion du cercle de Sikasso, frontalière avec le Burkina Faso (Figure 1).

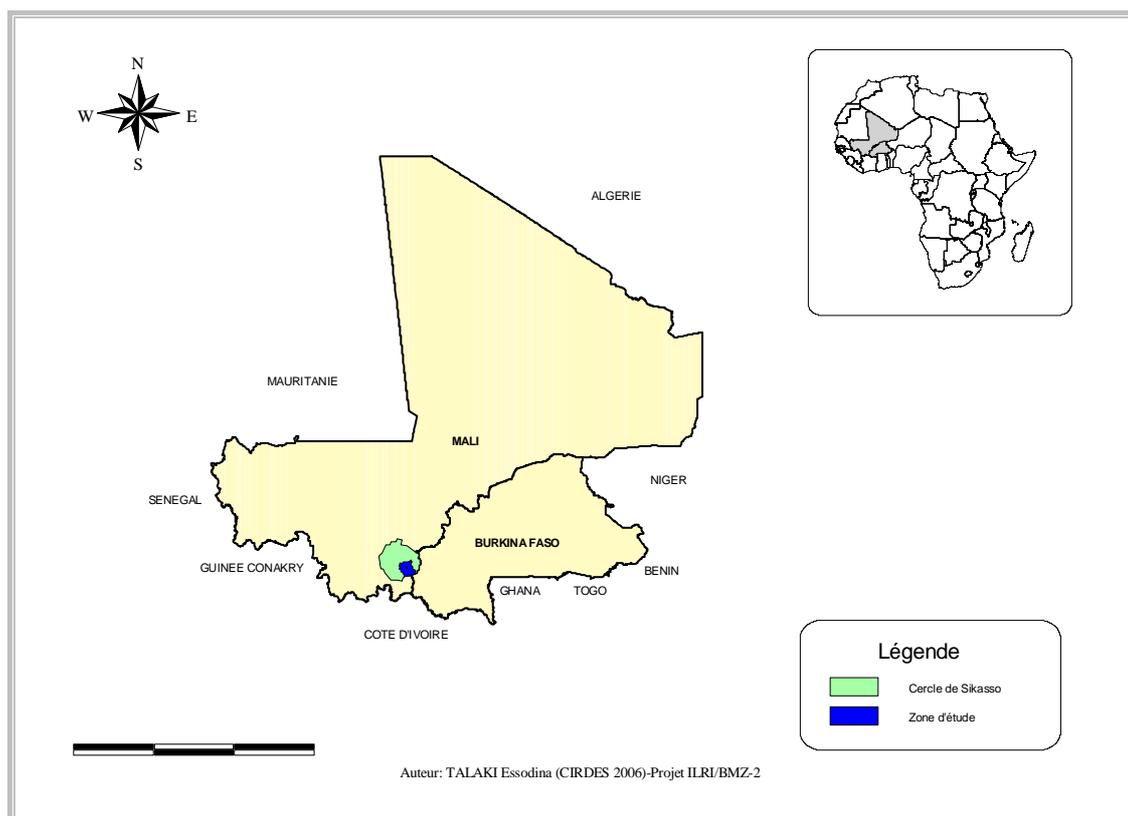


Figure 1 : Zone d'intervention

Dans cette zone, la population est en majorité paysanne et joue un rôle important dans l'économie nationale. L'agriculture au sens large, occupe une place prépondérante avec l'élevage associé à une importante culture cotonnière. L'élevage bovin essentiellement de type agropastoral, fournit des bœufs pour les travaux champêtres et le transport des intrants, de la fumure pour la fertilisation des sols et constitue un moyen d'épargne et de capitalisation des revenus tirés de la vente du coton. Les bœufs de labour constituent 25-30% des effectifs bovins à

génotype essentiellement zébu. Il s'agit d'une zone subhumide avec une végétation de type soudanien. La pluviométrie variant entre 1 000 et 1 200 mm/an, est favorable à la production agricole et à la valorisation des sous produits en production animale. Par ailleurs, elle crée des conditions favorables au développement des glossines qui sont les principaux vecteurs des trypanosomoses animales dans cette zone.

1.2- Méthodes

Trois enquêtes, à intervalles réguliers de 4 mois, ont été conduites entre Août 2003 et Avril 2004 dans 11 villages du cercle de Sikasso pour une rapide évaluation épidémiologique des trypanosomoses animales suivant la saisonnalité. La première enquête a eu lieu en Août correspondant à la saison pluvieuse, la seconde en Décembre pour la saison sèche froide et la dernière enquête en Avril pour la saison sèche chaude. Ces enquêtes avaient pour objectif d'étudier le facteur « saison » sur le risque trypanosomien (prévalence des infections chez les bovins, densité et taux d'infection des mouches tsé-tsé) dans un contexte de chimiorésistance. A chaque enquête, un échantillon de 30 à 90 bovins sédentaires (tableau I) âgés de plus d'un an a été constitué par village. Le choix du matériel animal a été aussi aléatoire que possible. Chaque troupeau du village a été représenté dans l'échantillon proportionnellement à son importance numérique afin que l'échantillon soit le plus possible représentatif du cheptel bovin villageois.

Sur le plan parasitologique, à chaque enquête et pour chaque animal, du sang a été prélevé à la veine jugulaire dans un tube avec anti-coagulant pour la recherche au microscope des trypanosomes vivants par la technique du Buffy Coat (MURRAY et *al.* 1977). A cette recherche de trypanosomes a été associée une évaluation de l'état d'anémie à travers la mesure de l'hématocrite ou Packed Cell Volume : PCV (WOO, 1970). Tout animal parasitologiquement positif ou ayant un PCV inférieur à 25 % a été traité à l'acéturate de diminazène de façon aléatoire (par jet de pièce d'argent) soit à la dose de 3,5 mg/kg (dose simple), soit à la dose de 7 mg/kg (dose double). Un contrôle parasitologique a été effectué 15 jours après le traitement.

Parallèlement à ces enquêtes parasitologiques, des enquêtes entomologiques ont été menées. Ainsi, 10 pièges de capture de type Challier-Laveissière ont été placés par localité en galerie pour une durée de 8 heures.

Les informations obtenues à la suite de ces enquêtes ont été saisies et analysées à l'aide des logiciels Excel et XLSTAT version 6.1.9 pour les données quantitatives. Quant aux données qualitatives, le logiciel « Stata/Personal Computer (SPSS/PC) version 10.0, a été utilisé pour les analyses descriptives (fréquences, pourcentages et tables croisées).

Tableau I : Effectifs de bovins suivis par village et par période

Villages	Août	Décembre	Avril
Bamadougou	52	50	48
Diassadiè	50	35	37
Farako	72	86	85
Finibougou	59	71	74
Finkolo	49	74	61
Kafouziéla	54	47	46
Kapala	60	66	79
Niangassoba	59	31	30
Niankorobougou	52	56	51
Tiogola	70	90	86
Wahibéra	45	45	54
Total	622	651	651

2- Résultats et discussion

2.1- Prévalences parasitologiques et types d'infection

Le tableau II rapporte les prévalences parasitologiques obtenues par village et par période durant l'étude.

Tableau II : Prévalences parasitologiques par village et par période

Villages	Prévalences par périodes (%)			Comparaison au seuil 5%	
	Août (SP)	Décembre (SSF)	Avril (SSC)	Khi ²	Signification
Bamadougou	0,00	4,00	2,08	2,083	NS
Diassadiè	34,00	22,86	10,81	6,333	S
Farako	11,11	10,47	5,88	1,616	NS
Finibougou	3,39	7,04	14,86	5,802	NS
Finkolo	10,20	10,81	8,20	0,272	NS
Kafouziéla	3,70	4,26	2,17	0,330	NS
Kapala	11,67	9,09	5,06	2,037	NS
Niangassoba	6,78	12,90	6,67	1,143	NS
Niankorobougou	9,62	16,07	19,61	2,070	NS
Tiogola	14,29	16,67	5,81	5,237	NS
Wahibéra	28,89	13,33	11,11	6,147	S
Moyenne	12,15	11,59	8,39	4,917	NS

S : différence significative

SP : saison pluvieuse

SSC : saison sèche chaude

NS : différence non significative

SSF : saison sèche froide

Ces résultats traduisent une hétérogénéité de l'évolution de la maladie (trypanosomoses animales) suivant les saisons. Sur l'ensemble des résultats, de très fortes prévalences ont été enregistrées en saison pluvieuse (Août) dans les villages de Diassadiè (34%) et de Wahibéra (28,89%). Dans ces deux localités, ces

prévalences ont baissé en saison sèche froide (Décembre) pour atteindre respectivement des valeurs de 10,81% et 11,11% en saison sèche chaude (Avril). Il ressort de la comparaison de ces valeurs par le test de Khi², que cette variation du taux d'infection observée au niveau de ces deux villages est significative au seuil 5% et traduit une plus grande ampleur des trypanosomoses animales en saison pluvieuse. Cette ampleur diminue progressivement en saison sèche froide puis en saison sèche chaude.

Cependant, les 9 autres villages ont présenté une situation différente. Dans ces villages, bien que plusieurs tendances de l'évolution des trypanosomoses animales aient été observées, aucune variation saisonnière significative (seuil 5%) de l'ampleur de ces trypanosomoses n'a pu être conclue. C'est l'exemple de Bamadougou où aucune infection n'a pu être décelée en Août, mais il a été enregistré respectivement des prévalences de 4% et de 2,08% en Décembre et en Avril dans cette localité.

Cette hétérogénéité dans l'évolution des prévalences suivant la période pourrait s'expliquer par des facteurs écologiques, la présence et l'abondance du vecteur, la localisation des zones de pâturage, la présence ou l'absence de chimiorésistance, et par la conduite du troupeau (traitements périodiques). En effet, même si de façon générale les possibilités de contact des glossines avec les hôtes mammifères diminuent en saison sèche, elles sont toutefois accrues dans les régions où les glossines se concentrent près des abreuvoirs ou des pâturages en saison sèche (ITARD, 1981).

Du point de vue du type d'infection, trois espèces de trypanosomes ont été identifiées (*Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma vivax* et *Trypanosoma brucei*). La figure 2 représente les différents types d'infection rencontrés dans chacun des villages sur les trois périodes. Sur l'ensemble des résultats, on a noté une très forte prédominance de *Trypanosoma congolense* (64,81 - 67,12% des cas), suivi de *Trypanosoma vivax* (28,77 - 35,19% des infections) et parfois de *Trypanosoma brucei* dans 1,37% des cas en Août. En plus de ces infections monospécifiques, des

infections mixtes à *Trypanosoma vivax* - *Trypanosoma congolense* et à *Trypanosoma vivax*- *Trypanosoma brucei* ont été respectivement enregistrées en Décembre dans 2,70% des cas et en Août dans 2,74% des cas (Figure 3).

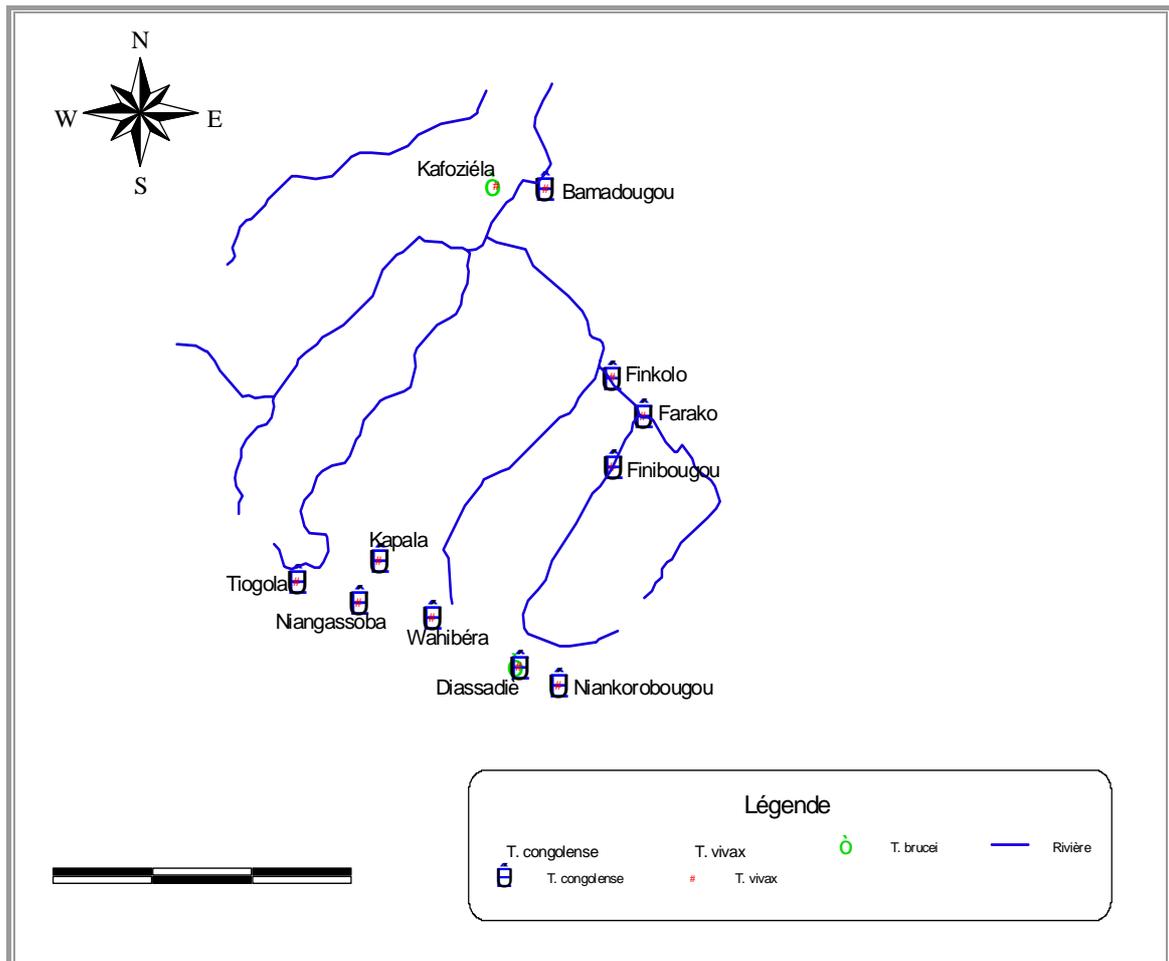


Figure 2 : Différents types d'infection par espèce de trypanosome

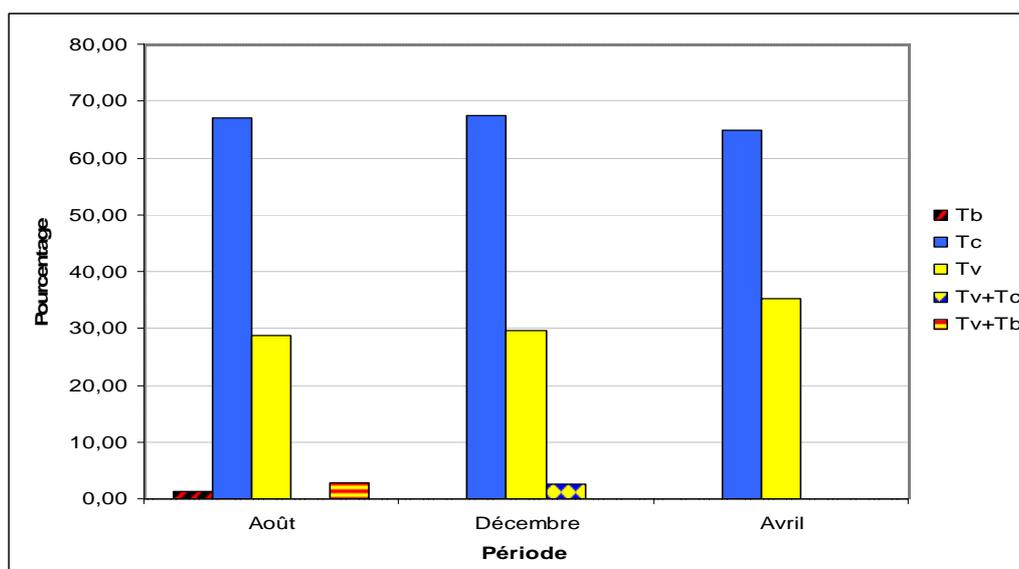


Figure 3 : Pourcentage des infections par espèce de trypanosome et par période

2.2- Hématocrite (Packed Cell Volume : PCV)

Les valeurs moyennes de l'hématocrite déterminées en fonction des différentes périodes et du statut parasitologique sont consignées dans le tableau III.

Tableau III : PCV moyen en différentes périodes par statut parasitologique

Statut parasitologique	Paramètres	Période		
		Août	Décembre	Avril
Négatifs	PCV moyen à J_0 (%)	27,05	25,24	25,91
	Écart type	5,26	5,84	5,02
	Intervalle de confiance ($\alpha=0,05$)	$27,05 \pm 0,44$	$25,24 \pm 0,48$	$25,91 \pm 0,40$
	Effectif	549	576	595
	PCV moyen à J_0 (%)	22,29	21,08	22,28
Positifs	Écart type	5,12	5,78	4,93
	Intervalle de confiance ($\alpha=0,05$)	$22,29 \pm 1,17$	$21,08 \pm 1,32$	$22,28 \pm 1,32$
	Effectif	73	74	54
	PCV moyen par période (%)	$26,49 \pm 0,43$	$24,76 \pm 0,46$	$25,61 \pm 0,39$

Sur l'ensemble des résultats analysés, l'hématocrite moyen enregistré sur les trois périodes varie entre $24,76\% \pm 0,46$ pour la période de Décembre et $26,49 \pm 0,43$ pour la période d'Août, passant par une valeur moyenne de $25,61 \pm 0,39$ obtenue pour la période d'Avril. Cette variation des valeurs de l'hématocrite entre ces différentes périodes est significative au seuil 5% (comparaison basée sur l'écart réduit). La même tendance dans l'évolution de l'hématocrite a été notée dans le groupe constitué d'individus parasitologiquement négatifs. Cette variation de l'hématocrite en fonction de la période serait liée à l'alimentation du point de vue qualité et disponibilité suivant les périodes. En effet, la période d'Août correspondant à l'hivernage (période de pluie) se caractérise par une importante disponibilité alimentaire et de bonne qualité. La faible valeur moyenne de l'hématocrite enregistrée en Décembre serait liée à la sécheresse, période pendant laquelle le pâturage consommé devient rare et est de mauvaise qualité. Le faible redressement de l'hématocrite observé en Avril pourrait s'expliquer par la présence mais non abondante de jeunes pousses d'herbe améliorant ainsi la qualité de l'alimentation par rapport à la période de Décembre. D'une manière générale, ces valeurs de l'hématocrite moyen sont inférieures à celles enregistrées par DESQUESNES *et al.* (1999) dans la zone de Sidéradougou au Burkina Faso, où un hématocrite moyen de 30,52% a été observé dont 31,6% chez les taurins, 30% chez les métis et 30,9% chez les zébus.

Dans le groupe constitué d'individus parasitologiquement positifs, la valeur moyenne de l'hématocrite calculé pour les trois périodes se situe entre 21,08 % et 22,29%, sans une fluctuation saisonnière significative de ladite valeur. La comparaison de la valeur de l'hématocrite moyen entre les deux groupes (négatifs et positifs), révèle une chute significative de cet hématocrite dans le groupe des animaux parasités. Ceci n'est pas surprenant lorsqu'on sait que les trypanosomes sont des parasites sanguins pouvant provoquer une anémie sévère du sujet hôte. SHIMELIS DAGNACHEV (2005) et KIDANEMARIAM *et al.* (2002) ont également noté en Ethiopie, une différence significative des valeurs de l'hématocrite entre les sujets des deux groupes avec des valeurs moyennes comparables.

Cependant, en dehors des trypanosomoses, il existe plusieurs autres facteurs pouvant affecter les valeurs de l'hématocrite. C'est l'exemple des helminthoses, des hémoparasitoses, de l'infestation par les tiques et du déséquilibre alimentaire.

2.3- Entomologie

Les résultats entomologiques ne prendront en compte que les données collectées dans 8 villages. En effet, à cause des inondations, des piégeages n'ont pas pu être effectués en Août dans les villages suivants : Farako, Kafoziéla et Bamadougou.

Deux espèces de glossines toutes riveraines ont été identifiées : *Glossina palpalis gambiensis* et *Glossina tachinoides*. Au total, 1 420 glossines ont été capturées dont 400 en Août, 392 en Décembre et 628 en Avril. La figure 4 représente les densités apparentes par piège (DAP) correspondant à chaque période pour les différentes espèces de glossine. Pour l'ensemble des résultats, la DAP moyenne par période varie entre 3,45 et 5,29 pour *Glossina palpalis gambiensis* alors qu'elle varie entre 0,98 et 2,80 pour *Glossina tachinoides*. Les plus fortes densités ont été enregistrées pour les deux espèces en Avril qui correspond à la saison sèche chaude, alors que les plus faibles densités ont été obtenues en Août pour *Glossina palpalis gambiensis* et en Décembre pour l'espèce *Glossina tachinoides*.

Ces résultats montrent bien que la période pluvieuse (Août) ne correspond pas à la période de la plus importante capture. Même si l'on sait qu'il y a une importante prolifération de glossines en saison pluvieuse, cette capture relativement faible de glossines pourrait s'expliquer par une plus grande dispersion de celles-ci. En effet, en cette période d'hivernage, les conditions climatiques deviennent plus favorables à la dispersion des glossines et celles-ci se retrouvent dans tout milieu écologique favorable à leur vie. Alors qu'en saison sèche, elles se rassemblent dans les zones à microclimat favorable à leur survie, réduisant ainsi leur aire de dispersion (DJITEYE et al., 1997).

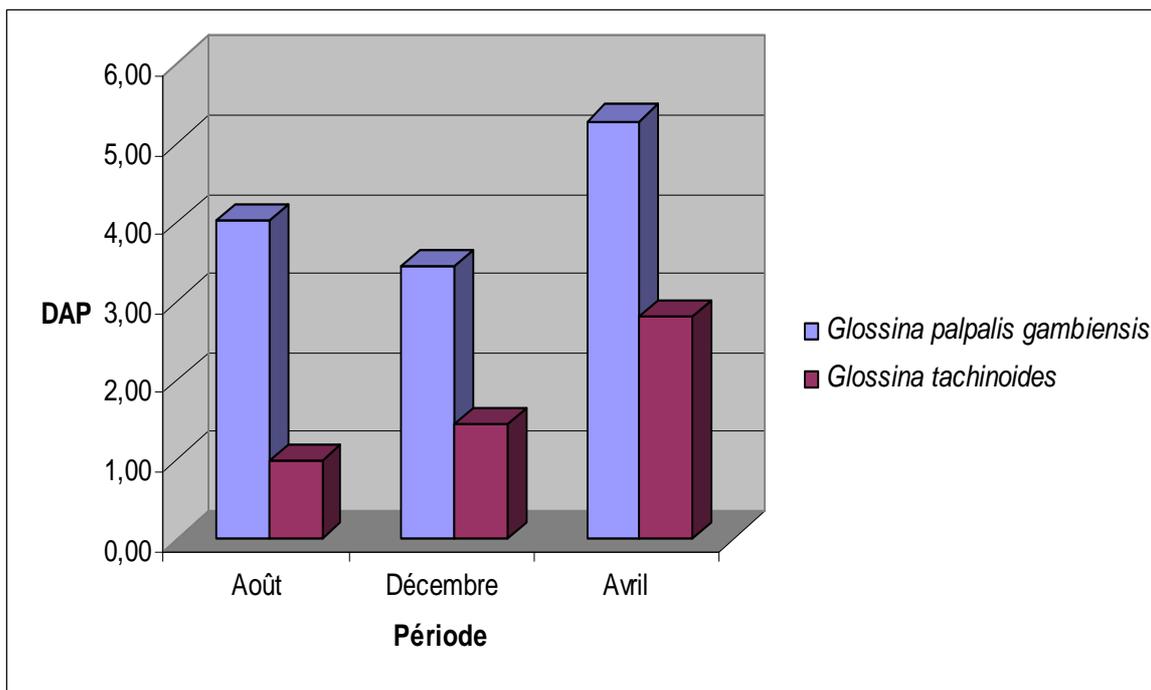


Figure 4 : DAP par espèce de glossine et par période

Pour toute période, il a été noté une nette prédominance de *Glossina palpalis gambiensis* représentant 64,81 à 80,5% des captures (figure 5). Une comparaison de ces proportions (χ^2) montre une différence significative au seuil 5% entre le pourcentage de *Glossina palpalis gambiensis* obtenu en saison de pluies (Août) et ceux obtenus en saisons sèches (Décembre et Avril). Cependant, au seuil 5%, aucune différence significative n'a été notée entre les proportions de *Glossina palpalis gambiensis* enregistrées en saisons sèches. En d'autres termes, la proportion de *Glossina palpalis gambiensis* capturée est plus élevée en saison pluvieuse. Cette différence observée s'expliquerait par une relative faible dispersion de *Glossina palpalis gambiensis*.

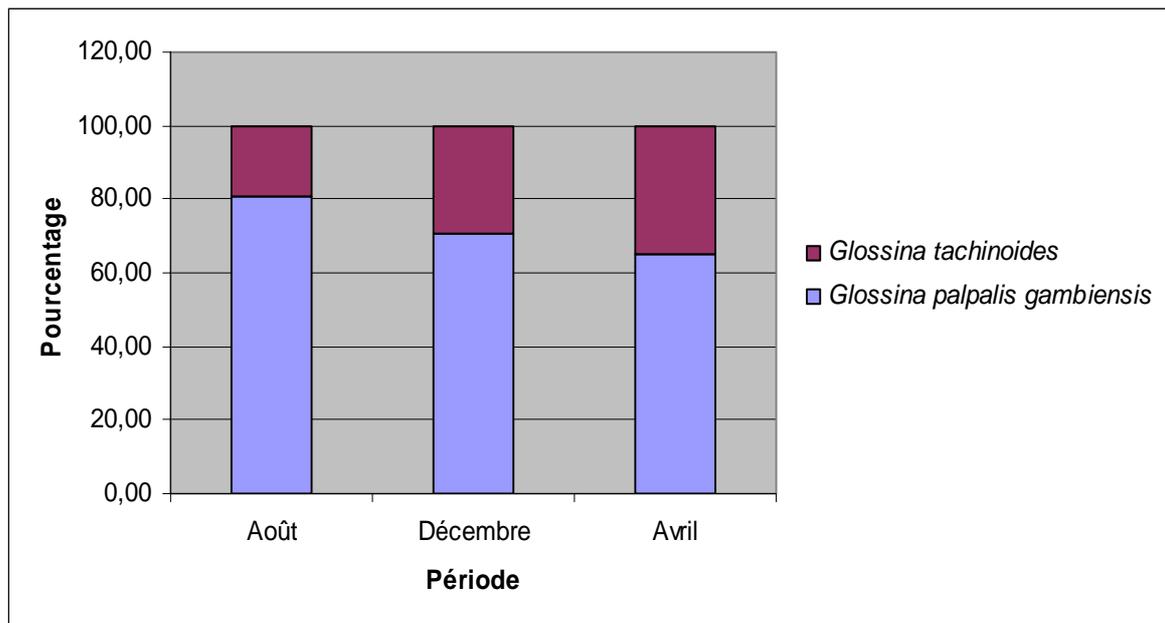


Figure 5 : Proportion des espèces de glossines capturées par période

Un dénombrement des mouches par sexe a permis de noter dans l'espèce *Glossina tachinoides*, un sex-ratio en faveur des mâles qui représentaient 53,05 à 61,76% des captures de ladite espèce. Une situation inverse a été observée pour *Glossina palpalis gambiensis* où les femelles étaient plus abondantes en Août (56,13%) et en Décembre (58,83%). Toutefois, dans cette même espèce, il a été noté 50,95% de mâles contre 49,05% de femelles en Avril. DJITEYE et *al.* (1997) ont trouvé des résultats similaires dans le gîte de Tienfala au Mali pour *Glossina palpalis gambiensis* où les femelles représentaient 60,74% de l'échantillon total capturé avec une situation inverse en début de saison pluvieuse où le rapport mâles/femelles était égal à 1,31.

Les résultats de la dissection sur différentes périodes permettraient de comparer la capacité vectorielle des glossines en termes de taux d'infection de glossines en différentes périodes. Pour des raisons techniques, cette dissection n'a pas pu être réalisée pour la période de Décembre limitant ainsi l'exploitation des résultats de la dissection dans cette étude.

2.4- Relation entre la densité des glossines et le taux d'infection chez les bovins

Une analyse sur deux variables (DAP et prévalence) en différentes périodes a conduit à la réalisation des figures 6, 7 et 8. La moyenne obtenue sur les trois périodes a été utilisée comme critère de classification des données. Elle est égale à 6 pour la DAP et de 13% pour la prévalence. Ainsi, une DAP ou une prévalence inférieure à cette moyenne est qualifiée de faible. La densité considérée dans cette analyse prend en compte les deux espèces de glossines identifiées. Une analyse de ces figures révèle qu'en saison pluvieuse (Août), tous les villages dans lesquels de fortes densités de mouches ont été enregistrées correspondent à des sites de hautes prévalences et inversement pour les villages à densités faibles. Cette situation traduit une corrélation entre la densité des mouches et la prévalence de la maladie (trypanosomoses animales). Le test de corrélation de Pearson (test paramétrique) au seuil de signification $\alpha=0,05$ a permis de confirmer cette corrélation entre la DAP de glossines et le taux d'infection chez les bovins avec un coefficient de corrélation égal à 0,888. La droite de régression associée à cette corrélation a pour équation : $y = 0,3563x - 1,268$ et pour coefficient de détermination $R^2 = 0,8056$ (figure 9). Cependant, lorsqu'on prend en considération les DAP par espèce de glossine et la prévalence combinée des trois espèces parasitaires identifiées en cette période de pluie, on obtient au même seuil ($\alpha=0,05$) une corrélation significative entre la densité enregistrée pour *Glossina palpalis gambiensis* et la prévalence pour un coefficient de corrélation égal à 0,898 alors qu'il n'y a pas de corrélation significative dans le cas de l'espèce *Glossina tachinoides*.

Pour les autres périodes (saisons sèches) aucune corrélation significative entre la densité des glossines et la prévalence de la maladie n'a pu être montrée.

En effet, nous sommes en présence des glossines riveraines dont la répartition est essentiellement limitée aux formations arborées du réseau hydrographique en saison sèche. En cette période, si la fréquentation des points d'abreuvement situés dans les galeries forestières est une obligation pour certains propriétaires de grands

troupeaux, elle ne l'est pas pour les éleveurs de petits troupeaux qui ont la possibilité de bénéficier de l'eau des puits ou des forages pouvant ainsi éviter les sites dangereux de la rivière (DE LA ROCQUE, 1999). Par contre, en saison pluvieuse, les agents vecteurs de la maladie (glossines) ont la possibilité de se disperser, sortant ainsi de leurs biotopes traditionnels pour atteindre les savanes avoisinantes, colonisant ainsi des gîtes péri-domestiques (LAVEISSIERE et al., 1986 ; KUZOE et al., 1985 ; CHALLIER, 1980 ; BALDRY, 1970) qui pourront être à l'origine de systèmes épidémiologiques temporaires (DE LA ROCQUE et al., 1999).

HENDRICKX et NAPALA (1999) ont, quant à eux, montré surtout au nord Togo que *Glossina tachinoides* était la seule espèce parmi les différentes espèces de glossines à montrer des corrélations significatives entre les cartes de densités glossiniennes et les trypanosomoses animales. Aussi, elle constitue l'espèce la plus répandue et la plus abondante dans cette partie du pays. Dans ce sens, nos résultats corroborent ceux de ces derniers auteurs, étant donné que dans notre étude *Glossina palpalis gambiensis* est prédominante et est la seule à montrer une corrélation significative entre la densité de glossines et la prévalence des trypanosomoses animales en période de pluie. Ceci d'autant plus que les pièges ont été posés en galerie et l'on sait que *Glossina palpalis gambiensis* est plus exigeante du point de vue cours d'eau, préférant les milieux fermés et inondés en permanence, alors que *Glossina tachinoides* s'accommode à des conditions plus arides et à des milieux plus ouverts (DE LA ROCQUE et al., 1997).

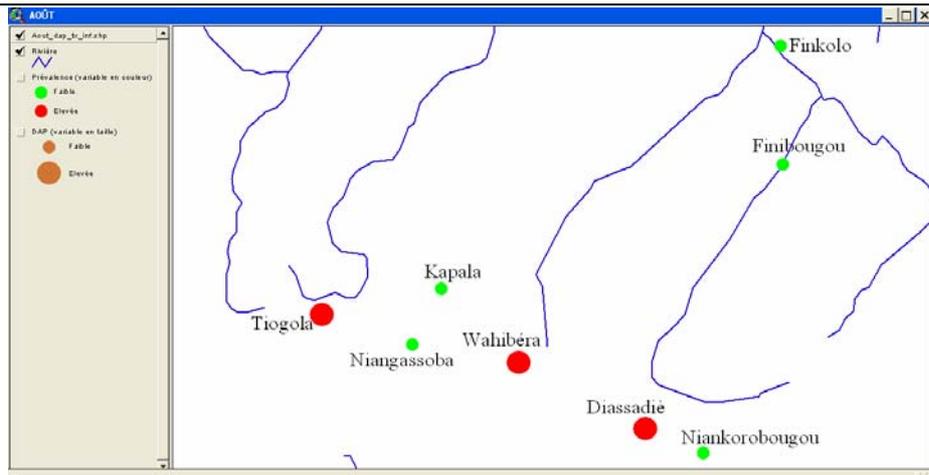


Figure 6 : DAP et Prévalence en saison pluvieuse (Août)

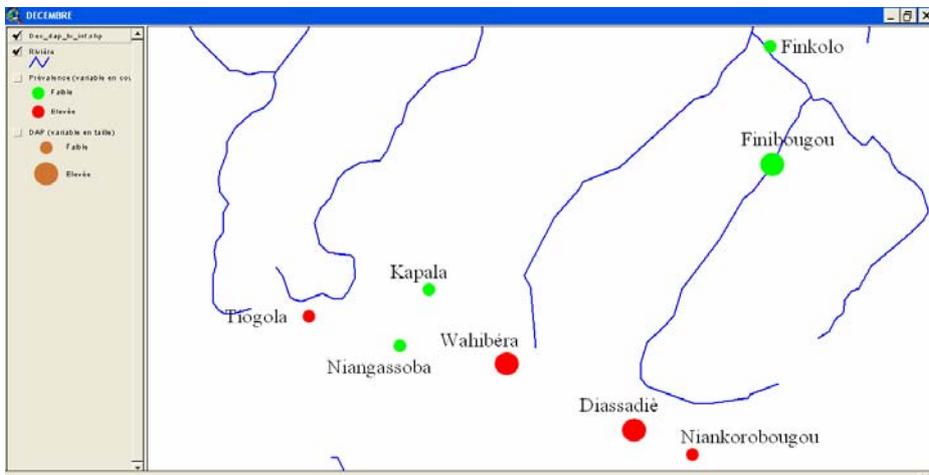


Figure 7 : DAP et Prévalence en saison sèche froide (Décembre)

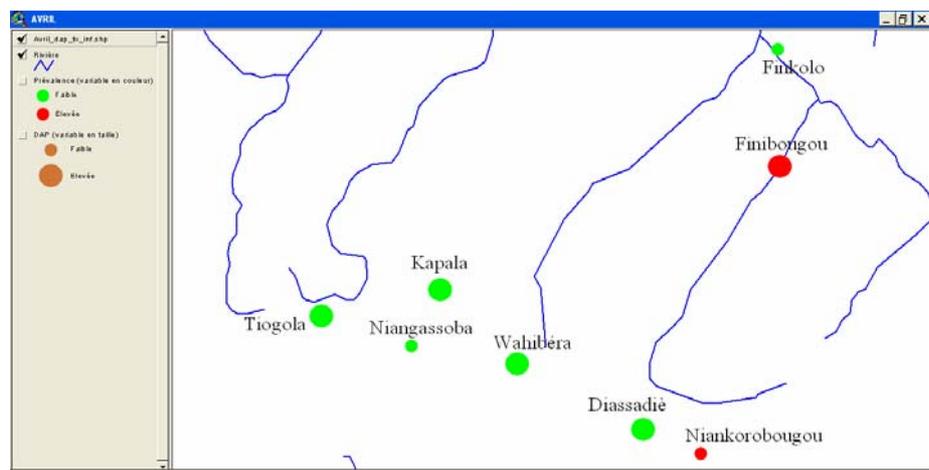


Figure 8 : DAP et Prévalence en saison sèche chaude (Avril)



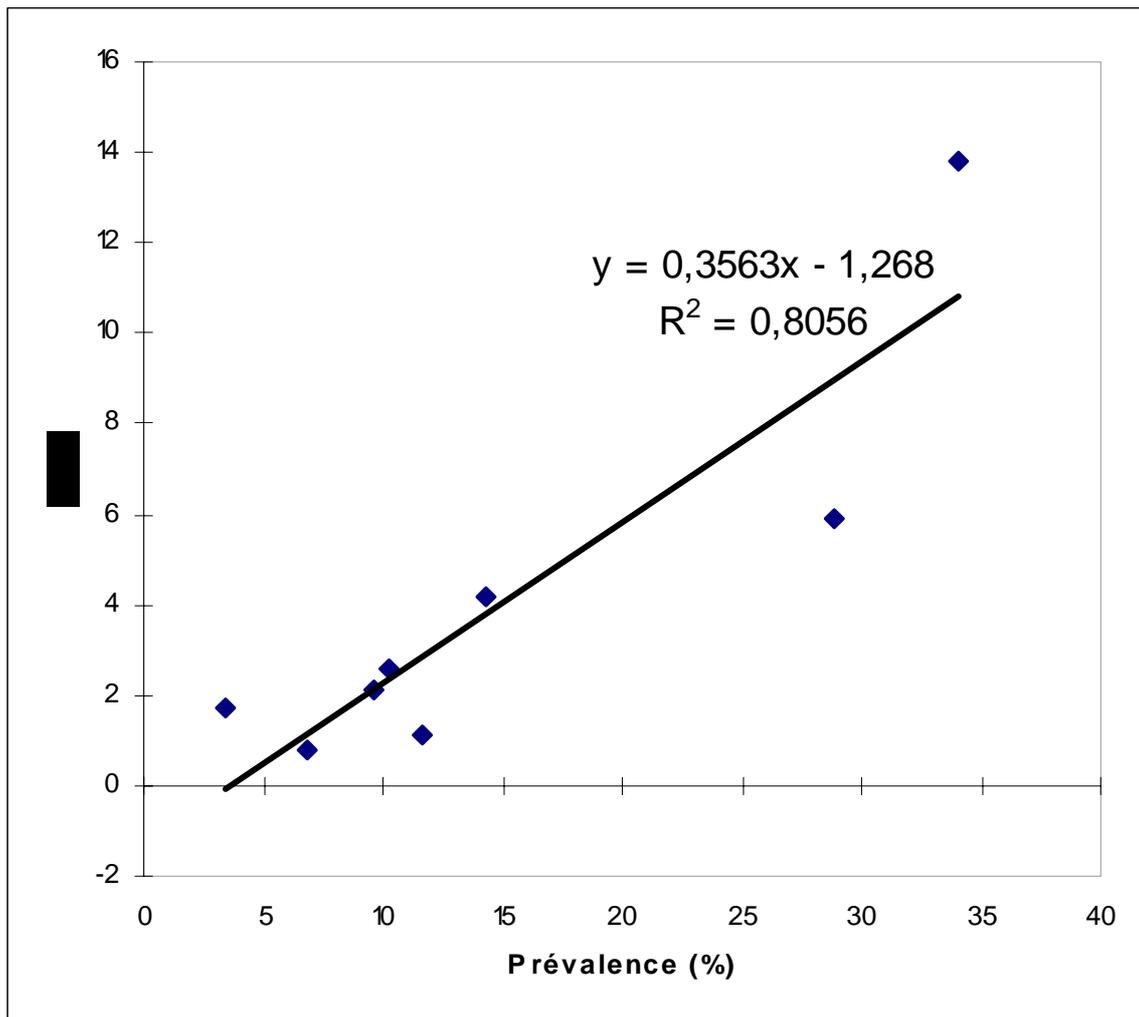


Figure 9 : Courbe de corrélation entre la densité et la prévalence

2.5- Résistance à l'acéturate de diminazène

Les résultats cumulés (sur les trois périodes d'enquêtes) de mise en évidence des échecs de traitement à l'acéturate de diminazène sont consignés dans le tableau IV. Seuls les animaux positifs, traités à J₀ et ayant fait l'objet de contrôle parasitologique au quatorzième jour post-traitement ont été pris en considération. Les taux de rechute varient entre 0 et 60 % dans le cas des traitements à la simple

dose (3,5 mg/kg) contre 0 à 25% pour les infections traitées à la dose double (7 mg/kg).

Etant donné que la résistance est la perte héritable de sensibilité d'une population de micro-organismes à un produit auquel il était préalablement sensible, si nous nous fixons 25% comme la valeur seuil du taux d'échec à partir de laquelle on pourra conclure à une chimiorésistance dans le cas du traitement à la dose simple, les sites de Diassadiè, Farako, Kapala, Niangassoba et Niankorobougou révèlent des suspicions de résistance au diminazène. Excepté le site de Kapala, les travaux antérieurs réalisés par TALAKI et *al.* (2006), ont révélé la présence de résistance à l'isométnidium dans les villages de Diassadiè, Farako et Niankorobougou et à une suspicion de chimiorésistance à Niangassoba. Au vu de ces résultats, on suspecterait une résistance à la fois à l'isométnidium et à l'acéturate de diminazène dans les quatre derniers villages. Le traitement à une dose élevée (double dose) à l'acéturate de diminazène pourrait constituer une solution alternative, car en dehors du site de Diassadiè où il a été enregistré 3 rechutes sur les 12 infections traitées, le traitement s'est révélé efficace (tableau IV) dans les autres villages. Cependant, la technique de diagnostic parasitologique et le contrôle post-traitement effectué au quatorzième jour ont certainement sous-estimé le taux d'échec de traitement à l'acéturate de diminazène dans la présente étude. En effet, le diagnostic parasitaire est effectué uniquement sur la base de recherche de trypanosomes vivants par la BCT ; or on sait très bien qu'une analyse complémentaire par la PCR pourrait indiquer des infections pouvant atteindre 2,5 fois supérieures à celles décelées par la BCT (DESQUESNES et *al.*, 1999 ; SOLANO et *al.* 1999 ; MASIGA et *al.*, 1992). Aussi, la brièveté du suivi qui est limité au quatorzième jour post-traitement n'a pas permis de prendre en considération des rechutes tardives.

Tableau IV : Echec de traitement à l'acéturate de diminazène

Villages	Dose simple (3,5 mg/kg)			Dose double (7 mg/kg)		
	Positifs traités à J ₀	Cas de rechute à J ₁₄	Taux de rechute (%)	Positifs traités à J ₀	Cas de rechute à J ₁₄	Taux de rechute (%)
Bamadougou	2	0	0	0	-	-
Diassadiè	14	5	35,71	12	3	25
Farako	9	3	33,33	8	1	12,5
Finibougou	5	0	0	9	1	11,11
Finkolo	8	2	25	7	0	0
Kafoéziéla	3	0	0	1	0	0
Kapala	5	3	60	10	1	10
Niangassoba	3	1	33,33	6	0	0
Niankorobougou	12	6	50	11	0	0
Tiogola	17	0	0	11	1	9,09
Wahibéra	14	1	7,14	9	0	0
Ensemble des villages	92	21	22,83	84	7	8,33

Conclusion

Les trypanosomoses animales africaines constituent encore une des contraintes majeures au développement de l'agriculture et de l'élevage dans la zone de Sikasso au Mali. La fluctuation annuelle de l'ampleur de ces trypanosomoses varie suivant les localités. La densité glossinienne considérée comme un des facteurs de risque de la maladie est fonction des périodes de l'année. Des échecs de traitement à l'acéturate de diminazène ont été révélés dans plusieurs localités de la zone et conduisent à une suspicion de la chimiorésistance.

Références bibliographiques

AUTHIE E., 1984. Mise en évidence d'une résistance aux trypanocides parmi les souches de *Trypanosoma congolense* récemment isolées au Burkina Faso. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **37** (no. spécial): 219-235.

BALDRY D.A.T., 1970. Observations on the peridomestic breeding behaviour and resting sites of *Glossina tachinoides* West. near Nsukka, East Central State, Nigeria. *Bull. Entomol. Res.*, **59**: 585-593.

CHALLIER A., 1980. Ecology and epidemiological importance of *Glossina palpalis* in the Ivory Coast forest zone. *Insect Sci. Appl.*, **1**: 77-83.

CLAUSEN P-H., SIDIBE I., KABORE I. et BAUER B., 1992. Development of multiple drug resistance of *Trypanosoma congolense* in Zebu cattle under high natural tsetse fly challenge in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso, *Acta Tropica*, **51** : 229-236.

DE LA ROCQUE S., 1997. Identification des facteurs discriminants majeurs de la présence des glossines dans une zone agro-pastorale du Burkina Faso. Intérêt pour la prévision du risque trypanosomien. Thèse de Doctorat en Biologie des Populations et Ecologie (Parasitologie), Université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc.

DE LA ROCQUE S., BENGALY Z., MICHEL J.F. et al., 1999. Importance des interfaces spatiales et temporelles entre les bovins et les glossines dans la transmission de la trypanosomose animale en Afrique de l'Ouest. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52** (3-4): 215-222.

DESQUESNES M., MICHEL J.F., DE LA ROCQUE S. et al., 1999. Enquête parasitologique et sérologique (Elisa-indirect) sur les trypanosomes des bovins dans la zone de Sidéradougou, Burkina Faso. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52** (3-4) : 223-232.

DJITEYE A., MOLOO S.K., FOUA BI K. et al., 1997. Variations saisonnières de la densité apparente et du taux d'infection par *Trypanosoma spp.* de *Glossina palpalis gambiensis* (Vanderplank, 1949) en zone soudanienne au Mali. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **50** (2): 133-137.

EISLER M.C., NDUNG’U J.M., MURILLA G.A. et al., 2000. Area-wide appraisal of drug resistance in trypanosomes infecting cattle in East and Southern Africa. *ICPTV*, **2**: 16-18.

GEERTS S. et HOLMES P.H., 1998. Drug management and parasite resistance in bovine trypanosomiasis in Africa. PAAT Technical Sciences Series, N° 1 FAO, Rome, 31 p.

HENDRICKX G. et NAPALA A., 1999. Le contrôle de la trypanosomose «à la carte» : une approche intégrée basée sur un Système d’Information Géographique. Académie Royale des Sciences d’Outre-Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales, Mémoire in-8°, Nouvelle Série, Tome 24, fasc. 4, Bruxelles.

ITARD I., 1981. Les trypanosomoses animales africaines. In: Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Maisons-Alfort. France, IEMVT, 305-469.

JAEGER W.K. et MALTON P.J., 1990. Utilisation, profitability, and the adoption of animal draft power in West Africa. *American Journal of Agricultural Economics*, **72**: 35-48.

KIDANEMARIAM A., HADGU K. et SAHLE M., 2002. Parasitological prevalence of bovine trypanosomoses in Kindo Koisha district, Wollaita zone, South Ethiopia. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **69** (2): 107-113.

KUPPER W. et WOLTERS M., 1983. Observations on drug resistance of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* and *Trypanosoma (Duttonella) vivax* in cattle at a feedlot in the Northern Ivory Coast. *Tropenmed. Parasit.*, **34**: 203-205.

KUZOE F.A.S., BALDRY D.A.T., VAN DER VLOEDT A. et CULLENS J.R., 1985. Observation of an apparent population extension of *Glossina tachinoides* Westw. in Southern Ivory Coast. *Insect Sci. appl.*, **6**: 55-58.

LAVEISSIERE C., COURET D. et HERVOUET J.P., 1986. Localisation et fréquence du contact homme/glossines en secteur forestier de Côte d’Ivoire. 1.

Recherche de points épidémiologiques dangereux dans l'environnement végétal. *Cah. Orstom Sér. Ent. Méd. Parasitol.*, **24** : 21-35.

MASIGA D.K., SMYTH A.J., HAYES P. et al., 1992. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.*, **22**: 909-912.

McDERMOTT J.J., SIDIBE I., BAUER B. et al., 2000. Field studies on the development and impact of drug resistant animal trypanosomes in market-oriented production systems in the southern Guinean Zone of West Africa. *ICPTV*, **2**: 18-21.

MURRAY M., MURRAY P.K. et Mc INTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* , **71**: 325-326.

PINDER M. et AUTHIE E., 1984. The appearance of isometamidium resistant *Trypanosoma congolense* in west Africa. *Acta Tropica*, **41**: 247-252.

SHIMELIS DAGNACHEW, SANGWAN A.K. et GETACHEW ABEBE, 2005. Epidemiology of bovine trypanosomoses in the Abay (Blue Nile) basin areas of Northwest Ethiopia. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **58** (3): 151-157.

SOLANO P., MICHEL J.F., LEFRANCOIS T. et al., 1999. Polymerase Chain Reaction as diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Vet. Parasitol.*, **86**: 95-103.

TALAKI E., SIDIBE I., DIALL O. et al., 2006. Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée). *RASPA*, **4** (1-2): 45-50.

WOO P.T.K., 1970. Haematocrit centrifugation technique for the diagnosis of African trypanosomoses. *Acta Tropica*, **27**: 384-386.

Remerciements

Les auteurs remercient la Coopération Allemande qui a financé cette étude sous le projet ILRI/BMZ-2, projet coordonné par International Livestock Research Institute (ILRI) en partenariat avec plusieurs institutions dont le Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide (CIRDES). Ils remercient également Dr SEYNI H., Dr DAO B. B., Dr ADAKAL H., Dr BENGALY Z., Dr SOULEY KOUATO B. et Mme SOURA T. pour les différentes remarques et suggestions apportées au manuscrit.

Méthode de diagnostic rapide de la résistance des trypanosomes à l'isoméamidium et au diminazène sur le terrain

Talaki E.^{1*}, Diall O.², Sidibé I.¹, Belem A.M.G.³, Pangu L.J.⁴

¹ Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide (CIRDES) 01 B.P. 454 – Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

² Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), Mali

³ Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

⁴ EISMV de Dakar, Sénégal

* Correspondance et tirés à part, e-mail : talakiessodina@yahoo.fr

Résumé:

Dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest, la chimiothérapie dans la lutte contre les trypanosomoses animales fait principalement recours à l'isoméamidium et au diminazène. Cependant, cette chimiothérapie est confrontée au problème de résistance aux trypanocides, constituant ainsi une contrainte majeure dans la lutte contre ces maladies. Pour la détection de la chimiorésistance, l'une des méthodes utilisées consiste à la réalisation sur le terrain d'enquêtes collectives basées sur le traitement et le suivi des infections chez des animaux naturellement exposés pendant 56 jours. La présente étude conduite au Burkina Faso (Diéri et Bandougou) et au Mali (Faraba, Chobougou et Sanana), a permis d'évaluer la chimiorésistance dans différentes localités de ces deux pays. Des analyses statistiques (Khi², Réduction du Risque Relatif, « Ratio d'Eisler ») sur différentes périodes de suivi (28 et 56 jours), ont été effectuées. Ainsi, un protocole de 28 jours a été développé et testé dans 5 sites pour détecter la résistance aux trypanocides. Ce protocole a permis d'évaluer simultanément l'efficacité des traitements aux deux molécules et d'analyser la résistance à l'isoméamidium par espèce de trypanosome. Une résistance à la fois à l'isoméamidium et au diminazène a été révélée à Diéri, contrairement au site de Bandougou où l'étude a révélé une efficacité des traitements à base des deux molécules. Ces deux sites ont été considérés comme zones à fortes prévalences parasitologiques. Dans les sites à faibles prévalences, la résistance à l'isoméamidium a été révélée à Faraba et à Sanana. En ce qui concerne la résistance au diminazène dans ces deux derniers sites, les faibles taux d'infections décelées n'ont pas permis l'interprétation des résultats des analyses statistiques. Pour cette même raison, nous n'avons pas pu évaluer l'efficacité des deux molécules trypanocides dans le site de Chobougou.

Mots clés : Diagnostic, chimiorésistance, isoméamidium, diminazène, trypanosomes.

Rapid diagnosis method of trypanosomes resistance to isometamidium and diminazene on the field

Abstract:

In the cotton belt of West Africa, isometamidium and diminazene are the main drugs used in chemotherapy to control animal trypanosomoses. However, this chemotherapy is confronted to the problem of chemoresistance which constitutes a major constraint in the fight against these diseases. For the detection of the chemoresistance, one of the methods used consists to realize on the field, collective investigations based on the treatment and the monitoring of infections among animals naturally exposed during 56 days. The present study, carried in Burkina Faso (Diéri and Bandougou) and Mali (Faraba, Chobougou and Sanana), allowed the assessment of the chemoresistance in different localities of these two countries. Statistical analysis (Khi^2 , Reduction of the Relative Risk, "Ratio of Eisler ") on different periods of survey (28 and 56 days) have been done. So, a protocol of 28 days was developed and tested in 5 sites to detect the resistance to the trypanocides. This protocol permitted to assess simultaneously the efficiency of the treatments for the two molecules and to analyze the resistance to isometamidium by species of trypanosomes. A resistance both to isometamidium and to diminazene was found at Diéri, contrary to Bandougou site where the survey revealed an efficiency of treatments with the two molecules. These two sites were considered as higher parasitological prevalences' zones. In the sites of low prevalences, resistance to isometamidium was revealed at Faraba and Sanana. Concerning the resistance to diminazene in these last two sites, the low rates of infections recorded did not allow the interpretation of the statistical analysis results. For the same reason, the efficiency of the two molecules in Chobougou site was not assessed.

Keywords: Diagnosis, chemoresistance, isometamidium, diminazene, trypanosomes.

Introduction

Dans la zone cotonnière de l’Afrique de l’Ouest, comme dans tous les autres pays de l’Afrique subsaharienne, la chimiothérapie reste le moyen le plus utilisé dans la lutte contre les infections trypanosomiennes. Cette chimiothérapie fait recours à deux principales molécules à savoir, le chlorure d’isométabidum employé essentiellement dans les traitements préventifs et l’acéturate de diminazène utilisée dans les traitements curatifs. Par ailleurs, des études antérieures ont révélé l’existence et même l’extension des phénomènes de chimiorésistance dans certaines régions (AUTHIE, 1984 ; CLAUSEN et *al.*, 1992 ; McDERMOTT et *al.*, 2000), constituant ainsi un obstacle majeur à la chimiothérapie. Cependant, l’accès à des moyens de diagnostic rapide de la chimiorésistance est essentiel dans toute stratégie de lutte contre l’extension du phénomène dans les zones affectées et sa dissémination vers des zones indemnes. Il devient alors important que les services nationaux de recherche et de développement concernés puissent être en mesure d’assurer la détection et la surveillance continue du phénomène sur le terrain.

Dans la pratique, la suspicion de résistance est toujours ou souvent éveillée par l’inefficacité apparente d’un traitement trypanocide (DIALL et *al.*, 2003). Toutefois, sa confirmation fait appel à des méthodes telles que :

- la culture *in vitro* ou *in vivo* des souches de trypanosomes isolées sur le terrain en présence de concentrations croissantes de trypanocide ;
- le dosage du trypanocide dans le sang pour pouvoir affirmer que le traitement est inopérant, malgré une concentration suffisante du médicament;
- l’application du test PCR/RFLP (Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphism) pour détecter des marqueurs génétiques de résistance sur des isolats de trypanosomes en utilisant des amorces spécifiques (DELESPAUX et *al.*, 2005);
- enfin, la réalisation sur le terrain d’enquêtes collectives basées sur le traitement et le suivi des infections chez des animaux naturellement exposés.

Cette dernière approche a été utilisée par ROWLANDS (2000) pour évaluer la résistance au diminazène et par EISLER *et al.* (2000) pour évaluer la résistance à l'isoméamidium. La méthode de EISLER *et al.* (2000) a été appliquée avec succès par McDERMOTT *et al.* (2003) au Burkina Faso et par TEWELDE *et al.* (2004) en Ethiopie. Cette méthode est basée sur la comparaison des taux d'incidence des infections dans deux groupes de bovins naturellement exposés dont l'un est traité à l'isoméamidium et l'autre non traité servant de témoin. Le suivi des infections dure 8 à 12 semaines. Cependant, les protocoles basés sur un suivi prolongé des animaux représentent une contrainte majeure à la participation des producteurs et augmentent le nombre d'abandons au cours des expériences. S'appuyant sur ces travaux antérieurs, la présente étude se propose de développer une méthode rapide pour un diagnostic simultané de la résistance à l'isoméamidium et au diminazène sur le terrain. Ceci en raccourcissant le test de EISLER *et al.* (2000) et en le complétant par une évaluation des échecs de traitement au diminazène.

1- Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest regroupant la province du Kéné Dougou au Burkina Faso, les cercles de Sikasso, de Bougouni et de Yanfolila au Mali. Elle a été menée en deux phases. La première phase était constituée d'enquêtes transversales avec pour objectifs de recueillir des informations sur les prévalences des trypanosomoses animales et d'obtenir en même temps des informations sur les espèces et les densités de glossines dans la zone. Pour la province du Kéné Dougou, ces données étaient déjà disponibles au CIRDES (Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide) et ont été exploitées pour la deuxième phase de l'étude. Cette deuxième phase était constituée d'enquêtes longitudinales destinées à évaluer les niveaux de chimiorésistance dans des sites à différents niveaux de prévalence. Ces sites ont été choisis à la suite de la première phase.

1.1- Enquêtes transversales

Elles ont été réalisées dans 34 sites correspondant aux villages, dans les cercles de Sikasso (partie ouest), de Bougouni et de Yanfolila au Mali. Ces sites ont été tirés par échantillonnage systématique sur une liste de villages retenus après recensement. Dans chaque site un échantillon ($n \geq 60$) de bovins âgés de plus d'un an a été choisi au hasard tout en s'assurant de la représentativité du cheptel bovin villageois. Sur chaque animal, du sang a été prélevé à la veine jugulaire dans un tube vacutainer à EDTA (Acide éthylène-diamine-tétra-acétique) comme anticoagulant, et la recherche de trypanosomes a été effectuée par la méthode du « Buffy coat » (MURRAY et *al.*, 1977). Pour les données entomologiques, 10 pièges de capture de type Challier- Laveissière ont été placés par localité et par type d'habitat (galerie et savane) pour une durée de 8 heures.

1.2- Enquêtes longitudinales

Elles ont été menées entre Septembre 2004 et Janvier 2005, dans 5 sites à différents niveaux de prévalences (2 sites au Burkina Faso et 3 sites au Mali) identifiés à la suite des enquêtes transversales. Dans chacun de ces sites, environ 100 bovins ont été choisis et identifiés par des boucles auriculaires, puis repartis au hasard en deux groupes. Le premier groupe a été traité à l'isométymidium et le second groupe a servi de témoin. En prenant le jour de traitement à l'isométymidium comme point de départ, des séances d'observation au nombre de 5 ont été réalisées aux dates J_0 , J_{14} , J_{28} , J_{42} et J_{56} dans les deux groupes. A J_0 , tous les animaux ont été testés pour détecter la présence de trypanosomes et une lecture des hématocrites a été effectuée ; le même jour, les bovins du groupe traité ont reçu une injection intramusculaire d'isométymidium à la dose de 1mg/kg de poids vif, tandis que les positifs parasitologiques du groupe témoin recevaient une injection intramusculaire de diminazène à la dose de 3,5mg/kg de poids vif. Toutes les deux semaines, des examens parasitologiques de contrôle avec lecture des hématocrites ont été effectués sur les deux groupes et les positifs des deux groupes ont été traités au diminazène. Ce suivi a duré 8 semaines.

1.3- Analyse des données

Les données des enquêtes transversales ont été utilisées pour le calcul des prévalences parasitologiques. Cela a permis d'identifier les sites (à différents niveaux de prévalence) qui ont été soumis à l'évaluation de la chimiorésistance. Les densités de tsé-tsé ont été également déterminées pour actualiser les connaissances et alimenter une base de données sur les trypanosomoses animales et la chimiorésistance de la zone.

1.3.1- Evaluation de la résistance à l'isométabidum

Pour l'évaluation de la résistance à l'isométabidum, une comparaison des taux d'incidence des infections a été effectuée dans les deux groupes (traité et témoin). EISLER *et al.* (2000) ont comparé les risques d'infection dans les deux groupes en divisant le risque dans le groupe témoin par le risque dans le groupe traité. Ils ont suggéré que la résistance à l'isométabidum soit suspectée lorsque ce rapport est inférieur à 2 ; ce qui équivaut à une réduction du risque d'infection dans le groupe traité de moins de 50% par rapport au groupe témoin.

Dans le cas présent, la démarche choisie a consisté à comparer dans chaque site, les proportions de nouvelles infections par des tests statistiques (test de χ^2 , test de réduction du risque relatif : RRR et test basé sur le « ratio de Eisler ») entre les deux groupes de bovins (traité et témoin), sur 28 jours et sur 56 jours post-traitement. Pour ce faire, les données ont été analysées dans les conditions suivantes :

- un comptage de nouvelles infections à partir de J₁₄;
- une unique prise en compte de tout animal contrôlé positif durant la période du suivi correspondant;
- une non prise en compte de tout animal négatif aux précédents contrôles et s'absentant au dernier contrôle du suivi correspondant. Il est alors considéré comme un animal perdu de vue et par conséquent est soustrait de l'effectif suivi ;

- une prise en compte de tout animal présent au dernier contrôle du suivi correspondant même s'il a été irrégulier aux contrôles antérieurs.

L'effet curatif de l'isométabidum (à la dose de 1mg/kg) a été évalué par la mise en évidence, au quatorzième jour post-traitement dans le groupe traité, des échecs de traitement sur des animaux déjà positifs à J_0 . Un taux d'échec sera fixé, comme étant la limite à partir de laquelle on peut conclure à une résistance.

1.3.2- Evaluation de la résistance au diminazène

En ce qui concerne le diminazène, son efficacité a été évaluée en fonction des taux de rechutes observés dans les 14 premiers jours après les traitements curatifs (3,5mg/kg) dans le seul groupe témoin, durant la période de suivi. Dans ce cas également, un taux d'échec sera fixé, comme étant la limite à partir de laquelle on peut conclure à une résistance au diminazène.

2- Résultats

2.1- Enquêtes transversales

Les résultats des enquêtes transversales sont consignés dans le tableau I.

Tableau I : Prévalences et densités apparentes par piège (DAP)

Zones	Villages	Taille de l'échantillon bovin	Prévalences (%)	DAP
Sikasso (Ouest)	Dougoukolobougou	66	4,55	-
	Mompiéla	70	5,71	0
	Tiola	80	0,00	2,5
	Bazana	70	12,86	12,3
	Karangasso	71	5,63	0,1
	Wékorobougou	78	1,28	0
Bougouni	Oualabougouda	78	5,13	0
	Konoko	78	0,00	0
	Ména	85	5,88	8
	Dissan	76	1,32	0
	Zantiéla	79	6,33	0,2
	Bougoula Tiémala	81	0,00	0
	Kérikoumala	77	0,00	0,2
	Sienré	76	2,63	1,7
	Tièkoumala	69	0,00	0
	Bombala	66	1,52	0,4
	Bagani	58	5,17	4,7
	Bérian	68	2,94	0
	Tonfa	77	1,30	4,6
	Mamissa	63	1,59	5,9
	Faraba	60	11,67	0,5
	Bohi	66	0,00	0
	Konza	63	0,00	0
	Chobougou	71	5,63	0,1
	Niamala	71	2,82	0,5
	Zambala	70	2,86	1,8
Diarrala	67	5,97	9,6	
Babéléna	64	1,56	0	
Yanfolila	Guinso	60	1,67	13,8
	Bounouko	61	1,64	1,6
	Sékou	88	1,14	0,8
	Zamana	76	1,32	2,1
	Tabaco	74	5,41	0
	Sanana	79	5,06	0

Les prévalences parasitologiques enregistrées par localité varient entre 0 et 12,86 % sur l'ensemble des sites ayant fait l'objet des enquêtes transversales. La prévalence

nulle a été enregistrée dans 5 sites, alors que les plus fortes valeurs des prévalences ont été obtenues dans les villages de Bazana (12,86%) et de Faraba (11,67%). Ces prévalences parasitologiques sont inférieures à celles obtenues par TALAKI *et al.* (2006) lors des enquêtes antérieures dans la zone de Sikasso-Est, où des valeurs de ces prévalences pouvaient atteindre 22% au niveau de certaines localités bien que ces derniers auteurs ne puissent pas conclure à une différence significative de la situation entre Sikasso-Est et Sikasso-Ouest. Par ailleurs, des données enregistrées dans la province du Kéné Dougou par le CIRDES ont révélé de très fortes prévalences parasitologiques dans cette partie du Burkina Faso. C'est l'exemple de Diéri et de Bandougou où des prévalences parasitologiques respectives de 38,5% et de 54,5% ont été rapportées.

Du point de vue entomologique, les valeurs des densités apparentes par piège obtenues par localité pour une durée de 8 heures varient de 0 à 13,8. Ces données étaient destinées à l'actualisation d'une base de données existante.

2.2- Enquêtes longitudinales

Les résultats obtenus à l'issue des précédentes enquêtes transversales nous ont permis d'identifier les 5 sites (à différents niveaux de prévalences parasitologiques) qui ont fait l'objet des enquêtes longitudinales. Il s'agit de Diéri (38,5%), Bandougou (54,5%), Faraba (11,67%), Chobougou (5,63%) et Sanana (5,06%). Une prévalence parasitologique supérieure ou égale à 10% a été le critère de classification des sites en haute ou en basse prévalence. Ainsi, les sites de Diéri et de Bandougou au Burkina Faso sont considérés comme des sites à très haute ou très forte prévalence, le site de Faraba au Mali comme un site à haute ou forte prévalence, et les sites de Chobougou et de Sanana toujours au Mali comme à basse ou faible prévalence.

2.2.1- Evaluation de la résistance à l'isoméamidium

2.2.1.1- Effet préventif

Dans cette évaluation de la résistance à l'isoméamidium, les données obtenues sont consignées dans le tableau II. Ces données ont été traitées sur des durées de 28 et de 56 jours.

Tableau II : Données par site sur 28 jours et sur 56 jours de suivi

Site (village)		Suivi sur 28 jours		Suivi sur 56 jours	
		Groupe traité	Groupe témoin	Groupe traité	Groupe témoin
Diéri (Burkina Faso)	Effectif initial à J ₀	50	50	50	50
	Perdu de vue	3	3	9	3
	Effectif suivi	47	47	41	47
	Positif	12	15	18	24
	Négatif	35	32	23	23
Bandougou (Burkina Faso)	Effectif initial à J ₀	44	41	44	41
	Perdu de vue	0	0	0	0
	Effectif suivi	44	41	44	41
	Positif	4	19	8	26
	Négatif	40	22	36	15
Faraba (Mali)	Effectif initial à J ₀	52	49	52	49
	Perdu de vue	3	1	8	6
	Effectif suivi	49	48	44	43
	Positif	5	6	9	12
	Négatif	44	42	35	31
Chobougou (Mali)	Effectif initial à J ₀	51	49	51	49
	Perdu de vue	1	2	1	0
	Effectif suivi	50	47	50	49
	Positif	2	0	5	2
	Négatif	48	47	45	47
Sanana (Mali)	Effectif initial à J ₀	50	50	50	50
	Perdu de vue	2	1	4	4
	Effectif suivi	48	49	46	46
	Positif	4	8	6	9
	Négatif	44	41	40	37

Sur une durée de 28 jours, la proportion de nouvelles infections (nouveaux cas) varie de 4 à 25,53% pour les groupes traités et de 0 à 46,34% pour les groupes témoins. La comparaison de ces proportions d'animaux infectés, par le test de khi²,

entre le groupe traité et le groupe témoin au niveau de chaque site nous a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau III. Pour l'interprétation des résultats, au seuil 5%, une valeur de χ^2 inférieure à 3,841 (valeur de χ^2 lue au seuil 5%) signifie qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes. En d'autres termes, cela signifie que le traitement n'a pas été efficace et par conséquent il existerait une chimiorésistance au produit testé. Ainsi, cette comparaison a révélé sur une durée de 28 jours la présence de chimiorésistance dans les sites de Diéri, de Faraba et de Sanana avec respectivement des valeurs de χ^2 égales à 0,467 ; 0,127 et 1,585. Par contre, dans le site de Bandougou, le traitement à l'isométabidum a été efficace puisque la valeur du χ^2 résultant de la comparaison entre le groupe traité et le groupe témoin, est égale à 14,921. Cependant, le risque nul enregistré dans le groupe témoin à Chobougou n'a pas permis la comparaison entre les deux groupes.

Tableau III : Résultats de l'analyse des données sur 28 jours par le test de χ^2

Site (village)		Suivi sur 28 jours			Conclusion au seuil 5%
		Groupe traité	Groupe témoin	χ^2	
Diéri	Effectif suivi	47	47	0,467	CR
	Positif	12	15		
	Pourcentage infecté (%)	25,53	31,91		
Bandougou	Effectif suivi	44	41	14,921	Ef
	Positif	4	19		
	Pourcentage infecté (%)	9,09	46,34		
Faraba	Effectif suivi	49	48	0,127	CR
	Positif	5	6		
	Pourcentage infecté (%)	10,20	12,50		
Chobougou	Effectif suivi	50	47	-	-
	Positif	2	0		
	Pourcentage infecté (%)	4,00	0,00		
Sanana	Effectif suivi	48	49	1,585	CR
	Positif	4	8		
	Pourcentage infecté (%)	8,33	16,33		

CR : Chimiorésistance

Ef : Efficacité du traitement

L'analyse sur une période de 8 semaines (56 jours) a permis d'obtenir des proportions plus élevées d'animaux infectés dans les deux groupes. Pour l'ensemble des sites, elles varient de 10 à 43,90% pour les groupes traités et de 4,08 à 63,41% pour les groupes témoins. La comparaison entre le lot traité et le lot témoin dans chaque site a révélé la présence de chimiorésistance dans les sites de Diéri, de Faraba et de Sanana et une efficacité du traitement dans le site de Bandougou (tableau IV). Toutefois, le faible risque enregistré dans le groupe témoin à Chobougou n'a pas permis la comparaison entre les deux groupes dans ce site. Les effectifs calculés des infectés étaient inférieurs à 5.

Tableau IV : Résultats de l'analyse des données sur 56 jours par le test de khi²

Site (village)		Suivi sur 56 jours			Conclusion au seuil 5%
		Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	
Diéri	Effectif suivi	41	47	0,45	CR
	Positif	18	24		
	Pourcentage infecté (%)	43,90	51,06		
Bandougou	Effectif suivi	44	41	18,093	Ef
	Positif	8	26		
	Pourcentage infecté (%)	18,18	63,41		
Faraba	Effectif suivi	44	43	0,659	CR
	Positif	9	12		
	Pourcentage infecté (%)	20,45	27,91		
Chobougou	Effectif suivi	50	49	-	-
	Positif	5	2		
	Pourcentage infecté (%)	10,00	4,08		
Sanana	Effectif suivi	46	46	0,742	CR
	Positif	6	9		
	Pourcentage infecté (%)	13,04	19,57		

CR : Chimiorésistance

Ef : Efficacité du traitement

L'analyse des données sur un suivi de 28 jours dans les différents sites étudiés a abouti aux mêmes conclusions que celles obtenues par l'analyse des données sur une durée de 56 jours. En comparant ces deux méthodes par la méthode « de ratio » de EISLER *et al.* (2000), nous aboutissons presque aux mêmes résultats (tableau V). En effet, ces derniers auteurs ont suggéré que la résistance à l'isométabidum soit suspectée lorsque le rapport du risque d'infection dans le groupe témoin sur le risque dans le groupe traité est inférieur à 2, ce qui équivaldrait à une réduction du risque d'infection dans le groupe traité de moins de 50% par rapport au groupe témoin.

Tableau V : Comparaison des résultats entre méthodes d'analyse

Site (village)	Suivi sur 56 jours		Suivi sur 28 jours			
	Khi ²		Khi ²		« Ratio de Eisler »	
	Valeur	Conclusion au seuil 5%	Valeur	Conclusion au seuil 5%	Valeur	Conclusion
Diéri	0,45	CR	0,467	CR	1,25	CR
Bandougou	18,093	Ef	14,921	Ef	5,10	Ef
Faraba	0,659	CR	0,127	CR	1,23	CR
Chobougou	-	-	-	-	-	-
Sanana	0,742	CR	1,585	CR	1,96	CR

CR : Chimiorésistance

Ef : Efficacité du traitement

Le calcul de la Réduction Relative du Risque (RRR) et de son intervalle de confiance à 95% nous a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau VI.

Tableau VI : Réduction Relative du Risque (RRR)

Site (village)		Suivi sur 28 jours						
		Groupe traité	Groupe témoin	RRR	Intervalle de confiance	Protection maximale (%)	Echec (%)	Conclusion
Diéri	Suivi	47	47	0,8	0,420 - 1,520	58	42	CR
	Positif	12	15					
	Positif (%)	25,53	31,91					
Bandougou	Suivi	44	41	0,196	0,072 - 0,528	92,8	7,2	Ef
	Positif	4	19					
	Positif (%)	9,09	46,34					
Faraba	Suivi	49	48	0,816	0,266 - 2,497	73,4	26,6	CR
	Positif	5	6					
	Positif (%)	10,20	12,50					
Chobougou	Suivi	50	47	-	-	-	-	-
	Positif	2	0					
	Positif (%)	4,00	0,00					
Sanana	Suivi	48	49	0,51	0,164 - 1,583	83,6	16,4	?
	Positif	4	8					
	Positif (%)	8,33	16,33					

CR : Chimiorésistance

Ef : Efficacité du traitement

Dans cette méthode d'analyse, à partir de la borne inférieure de l'intervalle de confiance, on détermine le taux maximal de protection conféré par l'isoméamidium et on en déduit le taux minimal d'échec correspondant. Le problème qui se pose dans cette analyse est l'absence d'un seuil consensuel du taux d'échec à partir duquel on peut conclure la présence de la chimiorésistance. Par ailleurs, dans le cas du paludisme, un taux d'échec de 25% est considéré par l'OMS (2004) comme la limite tolérable pour la chloroquine dans le traitement de la maladie. Dans cette étude, si nous considérons 25% comme étant la valeur seuil du taux d'échec à partir

de laquelle nous pouvons conclure à la présence de la résistance à l'isoméтамidium dans un site, nous aboutissons à peu près aux mêmes conclusions que dans les méthodes d'analyses précédentes, à l'exception du site de Sanana où la méthode de RRR révélerait dans cette hypothèse, une efficacité du produit (échec=16,44%). Par contre, au regard des résultats obtenus avec les autres méthodes d'analyse et en adoptant 15% comme la valeur seuil, on aboutit à une bonne corrélation entre toutes les méthodes d'analyse.

2.2.1.2- Effet curatif

L'effet curatif de l'isoméтамidium à la dose de 1mg/kg est évalué par le taux de rechutes au quatorzième jour post-traitement (J₁₄) dans le groupe traité. Les résultats de ces échecs post-traitement figurent dans le tableau VII.

Tableau VII : Taux de rechute après traitements à l'isoméтамidium

Sites	Positifs traités à J0	Cas de rechute à J14	Taux de rechute (%)
Diéri	20	8	40
Bandougou	11	0	0
Faraba	6	1	16,67*
Chobougou	3	0	0*
Sanana	3	0	0*

* Prudence dans l'interprétation de la valeur à cause du nombre de traitement faible

Les taux de rechute sont de 0 % pour les sites de Bandougou, Chobougou et de Sanana ; de 16,67% pour le site de Faraba et de 40% pour le site de Diéri. Contrairement aux autres sites, le nombre de positifs traités à l'isoméтамidium était relativement plus élevé à Diéri et Bandougou qui représentent des sites à très haute prévalence. En prenant en compte le nombre de traitement et en fixant 15% voire 25% comme valeur seuil du taux d'échec à partir de laquelle nous pouvons conclure

à l'inefficacité du produit, nous pouvons dire que l'isoméamidium n'a pas eu un effet curatif efficace dans le site de Diéri où un taux d'échec de 40% a été enregistré. Par contre, l'effet curatif du même produit à la même dose est évalué avec succès dans le site de Bandougou où un taux d'échec de traitement nul a été obtenu sur 11 cas traités. Cependant, les taux d'échec de traitement obtenus dans les zones où la prévalence n'est pas très forte sont à prendre avec une grande prudence, étant donné que les effectifs traités à J_0 sont faibles (inférieurs à 10).

2.2.2- Evaluation de la résistance au diminazène

Pour l'évaluation de la résistance au diminazène, le total des infections traitées dans le groupe témoin à J_0 et J_{14} a permis de calculer les taux de rechute au quatorzième jour post-traitement dans chaque site. Les résultats sont enregistrés dans le tableau VIII. Le nombre d'infections traitées au diminazène est relativement plus élevé dans les sites à forte prévalence parasitologique représentés par Diéri et Bandougou. En prenant encore 15% voire 25% comme valeur seuil, nous pouvons conclure à une résistance au diminazène à Diéri avec un taux d'échec de 26,67% contrairement à Bandougou où nous avons noté une efficacité du trypanocide en question avec un cas de rechute enregistré sur 19 infections traitées. Pour les autres sites à faible prévalence, les valeurs de taux de rechute calculées méritent d'être traitées avec prudence en raison du faible nombre des infections traitées.

Tableau VIII : Taux de rechute de traitement au diminazène par site

Sites	Total des infections traitées	Rechutes 14 jours post-traitement	Taux de rechute (%)
Diéri	15	4	26,67
Bandougou	19	1	5,26
Faraba	6	0	0,00*
Chobougou	0	0	-
Sanana	3	1	33,33*

* Prudence dans l'interprétation de la valeur à cause du nombre de traitement faible

2.2.3- Résistance à l'isométymidium par espèce de trypanosome

L'analyse des données par espèce de trypanosome a permis d'obtenir des échecs de traitement consignés dans les tableaux IX et X pour l'isométymidium. Sur l'ensemble des résultats, les infections enregistrées par espèces de trypanosome ne sont pas suffisantes pour aboutir à une conclusion au niveau de chaque site. Néanmoins, l'analyse de ces données par le test de khi², a révélé une efficacité du traitement à l'isométymidium dans les infections à *Trypanosoma congolense* dans le site de Bandougou. En ce qui concerne l'efficacité de ce produit sur *Trypanosoma vivax* dans ce même site, aucune conclusion n'a pu être tirée, même si le nombre d'infections décelées dans le groupe traité est relativement faible par rapport au groupe témoin (tableau X). Cependant, dans le site de Diéri, la chimiorésistance a été révélée dans les deux espèces de trypanosome. Au niveau de Faraba et de Sanana, elle n'a pu être révélée que dans l'espèce *Trypanosoma vivax*.

Tableau IX: Echecs de traitement dans l'espèce *T. congolense*

Site (village)	Effectif	Suivi sur 28 jours				Suivi sur 56 jours			
		Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%	Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%
Diéri	Suivi	47	47			41	47		
	Positif	12	10	0,237	CR	16	17	0,076	CR
Bandougou	Suivi	44	41			44	41		
	Positif	4	13	6,784	Ef	8	19	7,764	Ef
Faraba	Suivi	49	48			44	43		
	Positif	1	2	-	-	1	3	-	-
Chobougou	Suivi	50	47			50	49		
	Positif	1	0	-	-	1	0	-	-
Sanana	Suivi	48	49			46	46		
	Positif	4	5	-	-	0	6	-	-

CR : Chimiorésistance

Ef : Efficacité du traitement

Tableau X : Echecs de traitement dans l'espèce *T. vivax*

Site (village)	Effectif	Suivi sur 28 jours				Suivi sur 56 jours			
		Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%	Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%
Diéri	Suivi	47	47			41	47		
	Positif	0	5	-	-	3	7	*0,609	CR
Bandougou	Suivi	44	41			44	41		
	Positif	1	6	-	-	1	7	-	-
Faraba	Suivi	49	48			44	43		
	Positif	4	4	-	-	8	9	0,104	CR
Chobougou	Suivi	50	47			50	49		
	Positif	1	0	-	-	4	2	-	-
Sanana	Suivi	48	49			46	46		
	Positif	0	3	-	-	6	3	*0,492	CR

* Correction de YATES appliquée au Khi²

CR: Chimiorésistance

3- Discussion

L'utilisation des résultats des enquêtes transversales pour identifier les sites à forte prévalence à soumettre à l'évaluation de la chimiorésistance est un point très important. Bien que la chimiorésistance puisse exister dans les zones à haute et à faible prévalences, il serait économiquement plus pertinent de s'intéresser à la chimiorésistance là où les trypanosomoses constituent un problème majeur, et aussi, il serait techniquement impossible de réaliser des enquêtes longitudinales d'évaluation sur un grand nombre de sites à la fois.

Le suivi parasitologique des animaux par la méthode de EISLER et *al.* (2000), constitue l'approche de base pour l'évaluation de la résistance à l'isométnidium sur le terrain. Toutefois, cette méthode exige un suivi minimal de 56 jours, soit 8 semaines, avec des séances d'observations parasitologiques d'intervalles réguliers de 14 jours alourdissant le suivi à la fois pour les équipes de recherche et pour les paysans qui doivent consacrer beaucoup de temps aux séances de contrôle. Dans la présente étude, nous avons voulu raccourcir le temps de suivi en le ramenant à 28

jours exigeant seulement deux examens parasitologiques de contrôle aux 14^{ème} et 28^{ème} jours après traitement.

Cette méthode simplifiée a pu être comparée à la méthode de 56 jours dans les mêmes sites et sur les mêmes sujets, de même qu'à la méthode de ratio des taux d'incidence proposée par EISLER et *al.* (2000). Les résultats ont montré une très bonne corrélation entre les trois méthodes. Par contre, dans le site de Chobougou qui est l'un des sites à faible prévalence, le risque d'infection s'est révélé particulièrement très faible ; ainsi, le suivi n'a pas permis d'obtenir un nombre d'infections suffisant pour l'analyse statistique. Il serait important, pour pallier à cet inconvénient, de conduire le suivi pendant la période de forte transmission. Les taux d'échecs révélés par l'épreuve de 28 jours doivent être considérés comme des minima, car des rechutes tardives auraient pu apparaître, si le suivi avait été plus long.

En ce qui concerne l'évaluation de l'effet curatif de l'isométnidium et du diminazène, les infections observées au 14^{ème} jour post-traitement, ont été considérées comme des rechutes et celles observées plus tard, comme des réinfections. A ce niveau également, les taux d'échecs rapportés sont certainement sous-estimés en raison de l'impossibilité de prendre en compte les rechutes tardives.

Pour l'ensemble de ces différentes méthodes utilisées pour l'évaluation de l'efficacité d'un trypanocide, la sensibilité des tests pourrait être améliorée en jouant sur la taille des échantillons ou sur la technique de diagnostic parasitologique.

Conclusion

Les résultats de cette étude ont montré qu'une approche combinant une enquête transversale pour évaluer les prévalences avec une épreuve de suivi parasitologique de sujets traités aux trypanocides sur 28 jours permettait de générer des données de base sur les trypanosomoses et de donner une indication sur les niveaux de résistance à l'isométnidium et au diminazène, à l'échelle d'une zone. Cette

méthode de suivi sur 28 jours a donné des résultats comparables à celles de 56 jours. En plus, cette méthode de 28 jours peut aussi être déconnectée de l'enquête d'évaluation des prévalences et servir à vérifier l'existence de la chimiorésistance dans des sites particulièrement suspects et issus d'une zone où la situation générale des trypanosomoses est déjà connue. Le caractère relativement simple et économique de l'épreuve et son gain de temps, pourraient en faire un outil précieux pour la détection et la surveillance des foyers de résistance aux trypanocides et pour la recommandation de stratégies de lutte appropriées. Un taux d'échec de 15% pourrait être considéré comme valeur limite à partir de laquelle on peut conclure à une résistance aux trypanocides. Toutefois, pour les sites à faible prévalence, la sensibilité de cette méthode pourrait être améliorée en ciblant la période de forte transmission, en augmentant si possible la taille de l'échantillon et/ou en améliorant la sensibilité de la technique du diagnostic parasitaire.

Références Bibliographiques

AUTHIE E., 1984. Mise en évidence d'une résistance aux trypanocides parmi les souches de *Trypanosoma congolense* récemment isolées au Burkina Faso. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **37** (no. spécial): 219-235.

CLAUSEN P-H., SIDIBE I., KABORE I. et BAUER B., 1992. Development of multiple drug resistance of *Trypanosoma congolense* in Zebu cattle under high tsetse fly challenge in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso. *Acta Tropica* **51**:229-236.

DELESPAUX V., GEYSEN D. et GEERTS S., 2005. Diagnostic moléculaire de la résistance à l'isométnidium chez *Trypanosoma congolense*. In: 28^{ème} réunion du conseil scientifique international pour la recherche et la lutte contre les trypanosomoses, Addis Abeba, Ethiopie, 26-30 Septembre.

DIALLO O., CLAUSEN P-H., DIALLO B., MUENSTERMANN S., BOCOUM Z., DJITEYE A., DIARRA B., BARRY A.M., BENGALY Z., AFFOIGNON H., RANDOLPH T.F. et McDERMOTT J.J., 2003. Evaluation de la

chimiorésistance des trypanosomes dans la zone sub-humide cotonnière de l'Afrique de l'Ouest. In: Proceedings of the 27th meeting of ISCTRC, Pretoria, October 2003, *Publication*, **122**: 427-432.

EISLER M.C., McDERMOTT J., MDACHI R., MURILLA G., SINYANGWE L., MACHILA N., MBODY WEIGHTAMBO., COLEMAN P.G., CLAUSEN P-H., BAUER B., SIDIBE I., GEERTS S., HOLMES P.H. et PEREGRINE A.S., 2000. A rapid method for assessment of trypanocidal resistance in the field. 9th Symposium of International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE 9), Breckenridge, Colorado, 6-11 august.

McDERMOTT J.J., SIDIBE I., BAUER B., DIARRA B., CLAUSEN P-H., WOITAG T., OUEDRAOGO D., KAMUANGA M., PEREGRINE A.S., EISLER M.C. et MEHLITZ D., 2000. Field studies on the development and impact of drug resistant animal trypanosomes in market-oriented production systems in the southern Guinean Zone of West Africa. *Newsletter on Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, **2**: 18-21.

McDERMOTT J., WOITAG T., SIDIBE I., BAUER B., DIARRA B., OUEDRAOGO D., KAMUANGA M., PEREGRINE A., EISLER M., ZESSIN K-H., MEHLITZ D. et CLAUSEN P-H., 2003. Field studies of drug-resistant cattle trypanosomes in Kéné Dougou Province, Burkina Faso. *Acta Tropica*, **86**: 93-103.

MURRAY M., MURRAY P.K. et Mc INTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **71** : 325-326.

OMS, 2004. Evaluation et Surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué. OMS, Genève, Suisse, 68 p.

ROWLANDS G.J., 2000. Detecting drug resistance of trypanosomal infections to diminazène aceturate- a possible field test? *Newsletter of Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, **2** April.

TEWELDE N., ABEBE G., EISLER M., McDERMOTT J., GREINER M., AFEWORK Y., KYULE M., MÜNSTERMANN S., ZESSIN K-H. et CLAUSEN P-H., 2004. Application of field methods to assess isometamidium resistance of trypanosomes in cattle in western Ethiopia. *Acta Tropica*, **90**: 163-170.

TALAKI E., SIDIBE I., DIALL O., GRACE D., BARRY A.M., DJITEYE A., BOCOUM Z., CLAUSEN P-H., RANDOLPH T., AFFOIGNON H., HENDRICKX G., PANGUI L.J. et BELEM A.M.G., 2006. Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l’Afrique de l’Ouest (Mali et Guinée). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, **4** (1-2): 45-50.

Remerciements

Nous remercions :

- la Coopération Allemande qui a financé cette étude sous le projet ILRI/BMZ-2 ;
- International Livestock Research Institute (ILRI) qui est l’institut coordonnateur du projet ;
- le Centre International de Recherche Développement sur l’Elevage en zone Subhumide (CIRDES) et les autres institutions de recherche et de développement partenaires de l’ILRI pour l’exécution dudit projet ;
- Dr GRACE D. pour son aide dans la collecte des données ;
- Dr DAYO G-K., Dr SOULEY KOUATO B. et Ir SOARA A. E. pour les différentes remarques et suggestions apportées au manuscrit.

Contribution à l'amélioration de la sensibilité des méthodes de terrain pour la détection de la chimiorésistance à l'aide des prélèvements sur du papier filtre et de la PCR avec des amorces ITS

Talaki E.^{1*}, Sidibé I.¹, Diall O.², Belem A.M.G.³, Pangui L.J.⁴, Zoungrana A.¹

¹ Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide (CIRDES) 01 B.P. 454 – Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

² Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), Mali

³ Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

⁴ EISMV de Dakar, Sénégal

* Correspondance et tirés à part, e-mail : talakiessodina@yahoo.fr

Résumé:

La méthode de diagnostic de certitude couramment utilisée dans les trypanosomoses animales est la recherche microscopique de trypanosomes vivants. Cependant, la sensibilité de cette technique reste relativement faible, comparativement à la technique de la PCR (Polymerase Chain Reaction) classique. Cette dernière, en dehors de son coût élevé, exige des conditions (conservation des prélèvements à la température de +4°C ou -20°C) de réalisation parfois difficiles pour des équipes de terrain. Des prélèvements de buffy coat (BCT) réalisés sur du papier filtre ont été conservés pendant 12 mois (Septembre 2004 - Octobre 2005) à la température ambiante jusqu'au traitement au Chelex® 5 %. L'analyse par PCR unique pantrypanosomique à l'aide des amorces ITS (Internal Transcribed Spacer) a été réalisée à partir de ces prélèvements réalisés sur du papier filtre. Cette PCR utilisant des amorces polyspécifiques a indiqué des prévalences parasitologiques 1,2 à 6,2 fois supérieures à celles décelées par l'analyse microscopique du buffy coat sur les mêmes échantillons. En dehors des infections mixtes qu'elle a été capable de déceler en une seule réaction PCR, elle a permis de distinguer *Trypanosoma congolense* type savane de *Trypanosoma congolense* type forêt. Au regard du gain en sensibilité et de la facilité de conservation des prélèvements, cette technique pourrait être mise à profit dans la détection de la chimiorésistance dans les zones à faible prévalence parasitologique.

Mots clés : Papier filtre, buffy coat, PCR, ITS, diagnostic, chimiorésistance.

Contribution to the improvement of the sensitivity of field methods for the detection of the chemoresistance by samples collected on the filter paper and the PCR with ITS primers

Abstract:

The most reliable diagnosis method of animal trypanosomoses often used is the microscopic examination for motile trypanosomes. However, the sensitivity of this method remains relatively lower than the classic PCR (Polymerase Chain Reaction). This latter, besides of its high cost, requires some conditions which sometimes are difficult to apply on the field (conservation of samples at +4°C or -20°C). In this study, buffy coat (BCT) specimens were dotted on the filter paper and conserved during 12 months (September 2004 - October 2005) at ambient temperature until their treatment with Chelex® 5%. Samples were tested using unique “pantrypanosomique” PCR with ITS (Internal Transcribed Spacer) primers. This PCR using polyspecific primers indicated parasitological prevalences of 1.2 to 6.2 times higher than those recorded by the microscopic analysis of the buffy coat on the same samples. Beside the mixed infections which could be detected by one PCR reaction, this method could also distinguish *Trypanosoma congolense* savanna type from *Trypanosoma congolense* forest type. The gain of sensitivity and the easy conservation of samples in this method could be used for the detection of the chemoresistance in low parasitological prevalence areas.

Keywords: Filter paper, buffy coat, PCR, ITS, diagnosis, chemoresistance.

Introduction

Le contrôle des trypanosomoses animales repose généralement sur la chimiothérapie, la lutte contre les glossines qui sont les principaux vecteurs et l'élevage du bétail trypanotolérant. Les deux premières mesures présentent des limites dans l'apparition de résistances aux trypanocides et la difficulté à maintenir de manière durable la pression de la lutte. Il devient alors impératif d'assurer la détection et la surveillance continue des trypanosomoses animales et de la chimiorésistance sur le terrain.

De façon courante, le diagnostic de certitude le plus utilisé dans la détection des infections actives de trypanosomoses animales est basé sur la recherche au microscope des trypanosomes vivants. La sensibilité de cette technique est relativement faible par rapport à la technique de la PCR classique (monospécifique) qu'offre la biologie moléculaire. Cette dernière présente de meilleurs atouts de sensibilité et de spécificité (SOLANO *et al.*, 1997). Toutefois, son utilisation en routine est, cependant, limitée par le coût de la technique, du fait du nombre de tests (3 à 4) à réaliser par échantillon [car chaque couple d'amorces est spécifique d'espèce (DESQUESNES *et DAVILA*, 2002)] et du problème que pose la conservation des prélèvements.

Des amorces amplifiant les régions intergéniques de l'ADN ribosomal ont été mises au point (CUPOLILLO *et al.*, 1995 ; McLAUGHLIN *et al.*, 1996) et plusieurs études sur le diagnostic des trypanosomoses par les amorces ITS (Internal Transcribed Spacer) ont été réalisées (DESQUESNES *et al.*, 2001 ; DESQUESNES *et al.*, 2002 ; GEYSEN *et al.*, 2002 ; AGBO, 2003). L'évaluation et la validation récente de ces amorces ITS (MEWONO, 2004 ; SIDIBE *et al.*, 2005 ; SOULEY KOUATO, 2005) pourraient lever le frein pour une utilisation un peu plus régulière de la PCR dans le diagnostic des trypanosomoses animales, si entre autres, le problème de conservation des prélèvements est maîtrisé.

C'est dans ce contexte qu'a eu lieu la présente étude pour tester des amorces ITS sur des échantillons de buffy coat recoltés sur du papier filtre dans l'objectif de

contribuer à l'amélioration de la sensibilité des méthodes de terrain utilisées dans la détection de la chimiorésistance.

1- Matériel et méthodes

1.1- Echantillonnage, prélèvements et diagnostic

Entre Septembre et Octobre 2004, des enquêtes parasitologiques transversales de détection des trypanosomes bovins par examen parasitologique microscopique du buffy coat ou Buffy Coat Technique : BCT (MURRAY et *al.*, 1977) et par PCR (Polymerase Chain Reaction) ont été réalisées dans 6 villages de la zone regroupant les provinces du Kéné Dougou au Burkina Faso et les cercles de Bougouni et Yanfolila au Mali. Un échantillon de bovins par localité a été constitué selon un échantillonnage stratifié aléatoire de façon à ce que chaque troupeau de la localité soit représenté dans l'échantillon proportionnellement à son importance numérique.

Pour chaque animal, un prélèvement de sang a été effectué à la veine jugulaire dans un tube « vacutainer » à EDTA (Acide éthylène-diamine-tétraacétique) comme anticoagulant et placé sous glace avant examen microscopique. Les examens parasitologiques (BCT) ont été réalisés sur place, au plus tard dans les deux heures qui ont suivi les prélèvements. Il s'agit dans ce cas, d'une observation microscopique du buffy coat extrait des tubes hématocrites, placé entre lame et lamelle (MURRAY et *al.*, 1977). La mesure de l'hématocrite a été suivie de l'identification des espèces de trypanosomes.

Pour les prélèvements destinés à la PCR, des buffy coats ont été recueillis sur des feuilles de papier filtre N° 4, qui ont été ensuite séchées pendant quelques minutes à l'air libre, puis envoyés au CIRDES pour les analyses de laboratoire.

Cette étude a été menée en même temps que des enquêtes longitudinales conduites dans les mêmes localités dans le cadre du projet ILRI/BMZ-2. Au cours de ces dernières enquêtes, 2 lots d'animaux ont été suivis parasitologiquement par la

technique d'examen de buffy coat (BCT) sur une période de 56 jours en 5 séances d'observation espacées de 2 semaines.

1.2- Traitement au Chelex[®] 5 %

Le traitement au Chelex[®] a été réalisé en Octobre 2005, soit une année après les prélèvements. Pour chaque échantillon, le papier filtre a été découpé autour du buffy coat (sans toucher le buffy coat), puis déposé dans un tube « eppendorf ». 30 µl d'eau distillée stérile ont été additionnés au buffy coat, puis le mélange a été agité pendant 10 minutes. A ce mélange, 30 µl de Chelex 100[®] 5% (1g de Chelex 100[®] dans 5ml d'eau distillée) ont été ajoutés. L'ensemble a été vigoureusement agité et incubé pendant 1h à 56°C. Cette première incubation a été suivie d'une simple agitation puis d'une seconde incubation pendant 30mn à 95°C. Cette seconde incubation a été également suivie d'une simple agitation. Ensuite, la solution a été soumise à une centrifugation à 12 000 tours pendant 2 minutes. Enfin, cette solution a été refroidie et conservée à +4°C ou à -20°C en fonction du délai pour l'utilisation en PCR.

1.3- Polymerase chain reaction : PCR

La PCR a été réalisée à l'aide d'un couple d'amorces amplifiant l'ITS1 (Internal Transcribed Spacer) de l'ADN ribosomal (ADNr) des trypanosomes. Il s'agit d'un test PCR unique pantrypanosomique permettant d'identifier en une seule réaction PCR les principaux trypanosomes responsables des trypanosomoses animales (MEWONO, 2004) après migration de l'amplifiat sur un gel d'agarose. Les noms et les séquences du couple d'amorces utilisées sont consignés dans le tableau I.

Tableau I: Noms et séquences du couple d'amorces TRYP-B

Nom du couple d'amorces	Nom de la séquence	Séquence : (5'-3')
TRYP-B	ITS1C-F	CCGGAAGTTCACCGATATTG
	ITS1B-R	TTGCTGCGTTCTTCAACGAA

L'amplification a été effectuée dans un volume réactionnel par point PCR de 10,5 μ l contenant: 0,11 μ l d'amorce I (0,2 μ M); 0,11 μ l d'amorce II (0,2 μ M); 1,10 μ l de tampon 1X (10 mM de tris ; 1,5 mM $MgCl_2$ et 50 mM de KCl); 0,22 μ l de chlorure de magnésium (0,5 mM); 0,88 μ l de dNTP (ATP + CTP + GTP + TTP) (200 mM); 0,63 μ l de BSA (Bovine Serum Albumine à 1,5mg/ml); 6,73 μ l d'eau distillée; 0,22 μ l de Taq polymérase (1 UI) et de 0,5 μ l de solution d'ADN. La réaction PCR a été réalisée à l'aide d'un appareil PTC-100TM (tubes de 0,2 ml) et a comporté :

- une dénaturation initiale de 5 minutes à 95°C ;
- 35 cycles d'amplification ;
- une élongation finale de 10 minutes à 72°C.

Chaque cycle d'amplification a comporté 3 étapes. Il s'agit (figure 1):

- de la dénaturation du double brin d'ADN pendant 1 minute à 94°C ;
- de l'hybridation des amorces pendant 1 minute à 55°C ;
- et de l'élongation ou synthèse des brins d'ADN pendant 1 minute et 20 secondes à 72°C.

Chaque amplifiat a ensuite été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose (2%) en présence de marqueurs de taille et de témoins. La migration a été faite à 120 volts pendant 1 heure 30 minutes.

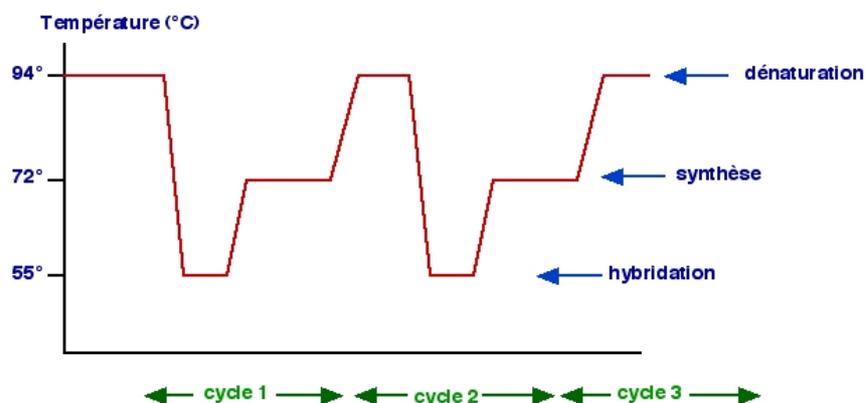


Figure 1 : Cycles d'amplification en PCR

2- Résultats et discussion

2.1- Prévalences parasitologiques

Les prévalences parasitologiques obtenues par l'observation microscopique et par la PCR sont consignées dans le tableau II. La PCR utilisant les amorces polyspécifiques a indiqué des prévalences parasitologiques supérieures de 1,2 à 6,2 fois à celles décelées par la microscopie pour un même échantillon. Dans les localités à faible prévalence (<10% par BCT), le rapport des prévalences PCR/BCT est supérieur ou égal à 2 avec des différences significatives au seuil de 5%. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par DESQUESNES *et al.* (1999) qui ont enregistré avec la PCR monospécifique une prévalence 2,5 fois supérieure à celle de la technique parasitologique classique (BCT). En effet, il est généralement reconnu que la méthode de diagnostic microscopique utilisée est la plus pratique sur le terrain. Elle offre néanmoins le désavantage de ne pas déceler les cas de faibles parasitémies (MURRAY *et al.*, 1977 ; HENDRICKX et NAPALA, 1999).

Tableau II : Prévalences comparées entre la microscopie et la PCR

Village	Taille de l'échantillon	Prévalence BCT (%)	Prévalence PCR (%)	Khi-deux (5%)	PCR/BCT
Bandougou	85	31,76	48,24	***	1,52
Diéri	102	31,37	37,25	NS	1,19
Toussiambandougou	29	31,03	37,93	NS	1,22
Chobougou	106	2,83	5,66	-	2,00
Faraba	127	8,66	20,47	***	2,36
Sanana	101	4,95	30,69	***	6,20
Total	550	-	-	-	-
Moyenne	-	15,82	27,64	***	1,75

*** Différence significative

NS : Différence non significative

Il ressort de ces résultats que les prélèvements sur du papier filtre pour une PCR utilisant les amorces polyspécifiques présentent un avantage au regard de la sensibilité de la technique, du coût, de la facilité de conservation et d'expédition du matériel biologique. Cet apport de la PCR pourrait être mis à profit dans l'amélioration de la sensibilité de la méthode générale de détection de la chimiorésistance basée sur le traitement et le suivi des infections chez les animaux naturellement exposés. Ceci, surtout dans les zones à faible prévalence où peu de cas sont généralement révélés par la méthode classique de diagnostic microscopique, limitant parfois les analyses statistiques et rendant difficile l'interprétation des résultats.

Le problème de conservation du matériel biologique (prélèvement) pour la PCR pourrait ainsi être résolu par les prélèvements sur du papier filtre. Un suivi parasitologique classique basé sur le diagnostic microscopique pourrait être complété par des résultats de la PCR. Le problème de contamination des échantillons dans le cas de la PCR pourrait bien être résolu par des précautions à prendre lors des manipulations (port de gants, bon séchage des prélèvements sur du papier filtre avant le transport).

2.2- Types d'infection

Les différentes espèces pathogènes de trypanosomes révélées par les deux techniques sont consignées dans le tableau III.

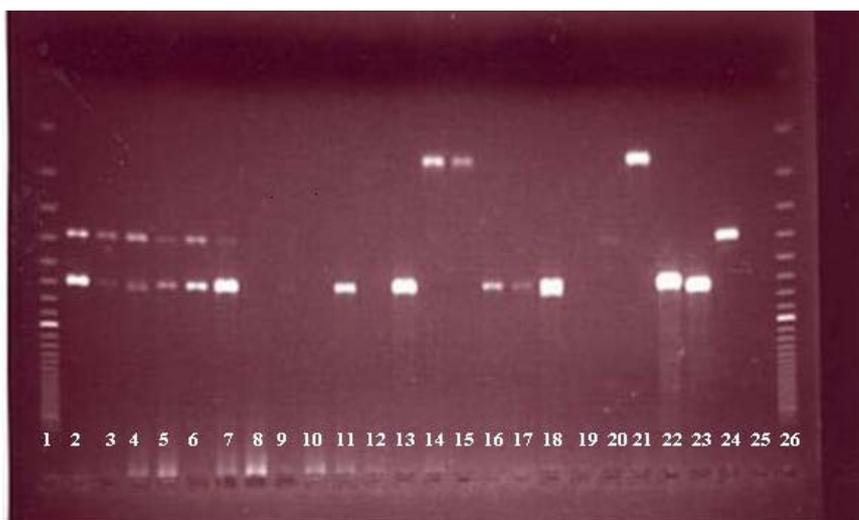
Tableau III : Espèces de trypanosomes révélés par la BCT et par PCR

Technique	Négatif	Tb	Tcs	Tcs + Tb	Tcs + Tcf	Tv	Tv + Tb	Tv + Tcs	Tcs + Tcf + Tb	Tc	Tc + Tv	Total
BCT	463	0	-	-	-	24	0	-	-	62	1	550
PCR	397	6	93	9	1	35	2	6	1	-	-	550

Tb: *T. brucei* Tc: *T. congolense* Tcs: *T. congolense* (savane) Tcf: *T. congolense* (forêt) Tv: *T. vivax*

La technique classique d'observation parasitologique (BCT) a permis de détecter des infections à *Trypanosoma congolense* (Tc), et à *Trypanosoma vivax* (Tv) et une infection mixte (Tc-Tv). Quant à la PCR unique pantrypanosomique, elle a permis d'obtenir des informations plus détaillées sur l'agent causal. En dehors de l'identification des différentes espèces de trypanosomes (Tc, Tv et Tb) et de la détection des infections mixtes (en une seule réaction PCR), elle serait capable de révéler le type de trypanosome (savane ou forêt) dans le cas des infections à *Trypanosoma congolense*. Toutefois, une augmentation du temps de migration de l'amplifié sur le gel d'agarose pourrait permettre une meilleure distinction entre *Trypanosoma congolense* type savane (Tcs) et *Trypanosoma congolense* type forêt (Tcf). La figure 2 représente un gel d'agarose après électrophorèse.

Sur l'ensemble des observations, la plupart des échantillons diagnostiqués positifs en microscopie ont été confirmés par la technique de la PCR. Les quelques rares cas qui n'ont pas pu être confirmés pourraient s'expliquer par une très faible parasitémie.



LEGENDE

- 1 et 26: marqueur de poids
- 2 à 20 : échantillons
- 21 : témoin positif Tv
- 22 : témoin positif Tcs
- 23 : témoin positif Tcf
- 24 : témoin positif Tb
- 25 : témoin négatif

Figure 2: Gel d'agarose après migration

3- Recommandations

Au vu des résultats obtenus par la PCR à partir des prélèvements sur du papier filtre, cette technique de diagnostic parasitaire pourrait éventuellement être préconisée surtout dans les zones à faibles prévalences parasitologiques, pour augmenter la sensibilité de la méthode de détection de chimiorésistance basée sur le traitement et le suivi des infections chez les animaux naturellement exposés. Ainsi, les différents protocoles décrits dans les tableaux IV, V et VI pourraient être recommandés pour la détection de la chimiorésistance dans les localités à faible prévalence parasitologique (<10%).

Tableau IV: Protocole d'évaluation de l'effet préventif de l'isomémidium sur 28 ou sur 56 jours

Lots	J ₀	J ₂₈	J ₅₆
Lot test (50 bovins)	- PCV + BCT - ISMM pour tout le lot test - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>
Lot « témoin » (50 bovins)	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>

PCV: Packed Cell Volume (Hématocrite)

BCT: examen parasitologique microscopique du buffy coat

PCR : Polymerase Chain Reaction

ISMM : isomémidium

Tableau V: Protocole d'évaluation de l'effet curatif de l'isoméamidium ou du diminazène

Lot	J ₀	J ₁₄	J ₂₈
Lot de 50 bovins	- PCV + BCT - Traitement au trypanocide à tester pour tous les animaux du lot - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Traitement au trypanocide à tester pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Traitement au trypanocide à tester pour les positifs au BCT - <i>*Prélèvement pour la PCR</i>

* Uniquement sur des animaux positifs et traités à J₁₄, et qui se sont révélés négatifs au BCT à J₂₈.

PCV: Packed Cell Volume (Hématocrite)

BCT: examen parasitologique microscopique du buffy coat

PCR : Polymerase Chain Reaction

Tableau VI: Protocole d'évaluation simultanée de l'efficacité de l'isoméamidium et du diminazène sur 28 ou sur 56 jours

Lots	J ₀	J ₁₄	J ₂₈	J ₄₂	J ₅₆
Lot test (50 bovins)	- PCV + BCT - ISMM pour tout le lot test - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>**Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>**Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>
Lot « témoin » (50 bovins)	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>	- PCV + BCT - Diminazène pour les positifs au BCT - <i>Prélèvement pour la PCR</i>

** Prélèvements facultatifs pour la PCR

PCV: Packed Cell Volume (Hématocrite)

BCT: examen parasitologique microscopique du buffy coat

PCR : Polymerase Chain Reaction

ISMM : isoméamidium

Conclusion

La collecte des prélèvements sur du papier filtre pour le diagnostic des trypanosomoses animales par la technique PCR à l'aide des amorces polyspécifiques (ITS) a donné des résultats satisfaisants, avec une sensibilité plus élevée par rapport à la technique de diagnostic microscopique du buffy coat. Cette méthode de collecte de prélèvement est moins contraignante et rend plus facile la conservation des prélèvements. Par ailleurs, par rapport à la PCR classique, la PCR utilisant les amorces polyspécifiques présente un grand avantage du point de vue coût et gain de temps ; car elle permet de déceler en une réaction PCR les différentes espèces de trypanosomes, même dans les infections mixtes. Cette technique pourrait être mise à profit dans la détection de la chimiorésistance surtout dans les zones à faible prévalence. Une étude comparative des différentes méthodes d'analyse (microscopie, PCR classique et PCR unique pantrypanosomique à l'aide des amorces ITS, en association avec les différentes méthodes de collecte) pourrait être envisagée afin de mieux se situer par rapport au choix d'une technique pour des études bien déterminées.

Références bibliographiques

AGBO E.C., 2003. Genome analysis and DNA marker-based characterisation of pathogenic trypanosomes. Doctoral Thesis. Utrecht university, 189 p.

CUPOLILLO E., GRIMALDI Jr G., MOMEN H. et BEVERLEY S.M., 1995. Intergenetic region typing (IRT): A rapid molecular approach to the characterisation and evolution of *Leishmania*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **73** : 145-155.

DESQUESNES M. et DAVILA A.M.R., 2002. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animals trypanosomes: a review and perspectives. *Vet. Parasitol.*, **109**: 213-231.

DESQUESNES M., McLAUGHLIN G., ZOUNGRANA A. et DAVILA A.M.R., 2001. Detection and identification of *Trypanosoma* of african livestock through a single PCR based on the internal transcribed spacer 1 of rDNA. *Int. J. parasitol.*, **31**: 610-614.

DESQUESNES M., MICHEL J.F., DE LA ROCQUE et al., 1999. Enquête parasitologique et sérologique (Elisa-indirect) sur les trypanosomes des bovins dans la zone de Sidéradougou, Burkina Faso. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52** (3-4) : 223-232.

DESQUESNES M., RAVEL S. et CUNY G., 2002. PCR identification of *Trypanosoma lewisi*, a common parasite of laboratory rats. *Kinetoplastid Biol. and Disease*, **1**(2)

GEYSEN D., DELESPAUX V. et GEERTS S., 2002. PCR-RFLP using Ssu-rDNA amplifications as an easy methods for species-specific diagnosis of *Trypanosoma* species in cattle. *Vet. Parasitol.*, **110**: 171-180.

HENDRICKX G. et NAPALA A., 1999. Le contrôle de la trypanosomose «à la carte» : une approche intégrée basée sur un Système d'Information Géographique. Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales, Mémoire in-8°, Nouvelle Série, Tome 24, fasc. 4, Bruxelles.

McLAUGHLIN G.L., SSEYONGA S.S., NANTEZA E. et al., 1996. PCR-based detection and typing of parasites. In: Parasitology for the 21st century. OZCEL M.A. and ALKAN M.Z. eds., 261-287.

MEWONO L., 2004. Evaluation et validation des amorces ITS pour l'amélioration du diagnostic PCR des trypanosomoses animales africaines. Mémoire de DEA, Université de Ouagadougou, Sciences Biologiques appliquées, Biotechnologie Microbienne et cellulaire, 46 p.

MURRAY M., MURRAY P.K. et Mc INTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, **71** : 325-326.

SIDIBE I., SOW A., MEWONO L. et BENGALY Z., 2005. Validation de la PCR-ELISA et des amorces ITS. In: Rapport d'activité. CIRDES, 30 p.

SOLANO P., CUNY G., DUVALLET G., CUISANCE D., RAVEL S., SIDIBE I. et TOURE S.M., 1997. Les techniques de génétique moléculaire au service de l'épidémiologie des trypanosomes. Intérêt de l'étude du polymorphisme des microsatellites des glossines. *Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop.*, **50** (4) : 297-301.

SOULEY KOUATO B., 2005. Evaluation du diagnostic par PCR directe et PCR-ELISA sur les ITS des trypanosomes pathogènes du bétail. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Thèse de doctorat vétérinaire, N°32.

Remerciements

Les auteurs remercient la Coopération Allemande qui a financé cette étude sous le projet ILRI/BMZ-2, projet coordonné par International Livestock Research Institute (ILRI) en partenariat avec plusieurs institutions dont le Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide (CIRDES). Ils remercient également Dr GRACE D. pour son aide dans la collecte des données ; Dr DAYO G-K., Dr SOULEY KOUATO B. et Ir SOARA A. E. pour les remarques et suggestions apportées au manuscrit.

CONCLUSION GENERALE

La zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest est une zone où l'agriculture au sens strict du terme, constitue la principale activité économique, avec le coton comme produit phare. Le moteur de cette économie est constitué par l'élevage bovin qui fournit des bœufs pour les travaux agricoles et le transport des intrants, et de la fumure pour la fertilisation des sols. Cet élevage bovin est également considéré comme un moyen d'épargne et de capitalisation des revenus tirés de la vente du coton. Les trypanosomoses animales africaines constituent la principale contrainte sanitaire au développement de cet élevage. La chimiothérapie reste le moyen le plus utilisé dans les stratégies de lutte contre ces maladies. Elle s'appuie sur des molécules anciennes et en nombre réduit dont l'utilisation répétée et parfois inappropriée, a conduit dans certaines régions à l'émergence de la chimiorésistance des trypanosomes. Des travaux antérieurs réalisés au Burkina Faso, ont permis d'identifier cette chimiorésistance dans plusieurs localités de la province du Kéné Dougou. Par contre, la situation épidémiologique de ce phénomène restait peu ou pas du tout connue dans le reste de la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest.

Plusieurs enquêtes transversales ont été conduites de Septembre 2002 à Juillet 2004 dans 89 villages (au Mali et en Guinée) et ont porté sur un total de 5 474 bovins. Elles avaient pour principal objectif de recueillir des informations sur les prévalences des trypanosomoses animales et d'obtenir en même temps des informations sur les espèces et les densités de glossines dans la zone allant du Kéné Dougou malien jusqu'à Mandiana en Guinée. A la suite de ces premières enquêtes transversales et sur la base des résultats obtenus et aussi de ceux déjà disponibles, plusieurs sites ont été choisis pour faire l'objet des enquêtes longitudinales pour mettre en évidence les échecs de traitement aux trypanocides (isométabidium et diminazène).

Sur le plan de la répartition spatiale, l'ampleur des prévalences parasitologiques décroît de l'Est à l'Ouest de la zone allant de Sikasso (Mali) à Mandiana (Guinée). La partie Sikasso-Est est la plus affectée avec une prévalence parasitologique moyenne de 6,3% contre 5% dans la partie Sikasso-Ouest. Dans les parties Bougouni-Yanfolila et Mandiana (Guinée), les prévalences sont respectivement de

2,9 et 2,8%. Les infections au Mali sont principalement dues à *Trypanosoma congolense* et à *Trypanosoma vivax*. Celles de la Guinée se caractérisent par la prédominance de *Trypanosoma brucei* (59%), suivi de *Trypanosoma congolense* (36%) et de *Trypanosoma vivax* (5%). Quant aux glossines qui sont les principaux vecteurs, l'espèce *Glossina palpalis gambiensis* est retrouvée dans toute la zone. L'espèce *Glossina tachinoides* n'a été enregistrée que du côté du territoire malien. Pour l'espèce de savane (*Glossina morsitans submorsitans*), elle a été principalement capturée à Mandiana en Guinée mais avec une nette prédominance de l'espèce *Glossina palpalis gambiensis*.

Pour poursuivre la précédente étude épidémiologique, une étude des variations saisonnières et des facteurs de risque des trypanosomoses animales dans 11 sites de la zone de Sikasso a montré que les fluctuations annuelles des prévalences parasitologiques variaient suivant les localités. La valeur moyenne de l'hématocrite en saison pluvieuse (Août) a été la plus forte ($26,49\% \pm 0,43$) avec une variation saisonnière significative (au seuil 5%) entre les trois saisons (saison pluvieuse, saison sèche froide et saison sèche chaude). Une corrélation significative ($\alpha=0,05$) entre la densité apparente de *Glossina palpalis gambiensis* et le taux d'infection des bovins a été observée en saison pluvieuse contrairement aux autres espèces de glossine et aux autres saisons.

Au cours de ces dernières enquêtes épidémiologiques, des études sur la résistance aux trypanocides ont été réalisées. Les résultats obtenus ont révélé la présence et la suspicion de la résistance à l'isométabidum et au diminazène dans plusieurs localités. Cependant, les analyses statistiques et l'interprétation des résultats de diagnostic de chimiorésistance sur le terrain, deviennent parfois difficiles dans des localités à faible prévalence parasitologique. En plus, le suivi sur 56 jours dans la mise en évidence des échecs de traitement à l'isométabidum paraît contraignant, à la fois pour les équipes de terrain et pour les éleveurs, compte tenu du nombre relativement grand (5) de contrôle à effectuer.

C'est dans ce sens qu'une étude comparative de différentes méthodes de diagnostic de terrain de la résistance aux trypanocides par des analyses statistiques (Khi², Réduction du Risque Relatif, « Ratio d'Eisler ») sur différentes périodes de suivi (28 et 56 jours) a été effectuée. Les résultats ont montré qu'une approche combinant une enquête transversale pour évaluer les prévalences avec une épreuve de suivi parasitologique de sujets traités aux trypanocides sur 28 jours permettait de générer des données de base sur les trypanosomoses et de donner une indication sur les niveaux de résistance à l'isométymidium et au diminazène, à l'échelle d'une zone. Une chimiorésistance aux molécules trypanocides a été révélée dans plusieurs localités à différents niveaux de prévalence parasitologique. Un taux d'échec de traitement de 15% pourrait être considéré comme valeur limite à partir de laquelle on peut conclure à une résistance aux trypanocides. Toutefois, pour les sites à faible prévalence, la sensibilité de cette méthode mériterait d'être améliorée.

Dans le souci de contribuer à l'amélioration de la sensibilité des méthodes de terrain pour la détection de la chimiorésistance, surtout dans les sites à faible prévalence parasitologique, l'analyse par PCR unique pantrypanosomique à l'aide des amorces ITS (Internal Transcribed Spacer) a été réalisée à partir des prélèvements sur du papier filtre. Cette PCR utilisant des amorces polyspécifiques a indiqué des prévalences parasitologiques 1,2 à 6,2 fois supérieures à celles décelées par l'analyse microscopique du buffy coat sur les mêmes échantillons. Au regard du gain en sensibilité et de la facilité de conservation des prélèvements, cette technique pourrait être mise à profit dans la détection de la chimiorésistance dans les zones à faible prévalence parasitologique à travers les différents protocoles proposés.

L'ampleur du phénomène est encore mal connue à l'échelle de toute la sous région. Du fait de l'existence et de l'extension de la chimiorésistance dans plusieurs localités sur le continent africain, il devient alors impératif d'assurer la détection et la surveillance continue des trypanosomoses animales et de la chimiorésistance sur le terrain. Il y a alors un besoin urgent pour les pays concernés d'identifier cette contrainte au développement de l'élevage comme méritant une attention particulière, afin de permettre la mise en application des mesures pour réduire et si

possible éradiquer ce fléau ; ceci en associant tous les acteurs impliqués dans le domaine de l'élevage. Cependant, il faudrait au préalable, s'assurer dans le cadre de la chimiothérapie, de la bonne qualité des produits trypanocides et de leurs bonnes utilisations sur le terrain, d'où la nécessité au niveau national voire régional, d'une bonne politique d'approvisionnement de médicaments vétérinaires. Il conviendrait ainsi de prendre en compte le risque de chimiorésistance dans les différentes stratégies de lutte contre les trypanosomoses animales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABIOLA F. A., BIAOU C. et FAURE P., 1999. Bon usage des médicaments vétérinaires et résistance des agents pathogènes et vecteurs de maladies animales. *In*: Quatrième séminaire sur les médicaments vétérinaires en Afrique, Dakar, EISMV, 6-10 décembre. Paris, OIE, 113-117.

AGBO E.C., 2003. Genome analysis and DNA marker-based characterisation of pathogenic trypanosomes. Doctoral Thesis. Utrecht University, 189 p.

AGYEMANG K., DWINGER R.H., LITTLE D.A., LEPERRE P. et GRIEVE A.S., 1991. Interaction between physiological status in N'Dama cows and trypanosome infections and its effect on health and productivity of cattle in Gambia. *Acta Tropica*, **50**: 91-99.

AGYEMANG K., DWINGER R.H., TOURAY B.N., JEANNIN P., FOFANA D. et GRIEVE A.S., 1990. Effects of nutrition on degree of anaemia and live weight in N'Dama cattle infected with trypanosomes. *Livestock Production Science*, **26**: 39-51.

AKOL G.W.O. et MURRAY M., 1986. Parasite kinetics and immune responses in efferent prefemoral lymph draining skin reactions induced by tsetse transmitted *Trypanosoma congolense*. *Veterinary Parasitology*, **19**: 281-293.

ALI B.H. et HASSAN T., 1984. Preliminary pharmacokinetic study of isometamidium chloride in camels. *Research in Veterinary Science*, **37**: 376-377.

AUTHIE E., 2000. Trypanosomoses : Physiopathologie et immunologie. *In*: *Précis de parasitologie vétérinaire tropicale*. AUPELF-UREF, Paris, TEC et Doc Lavoisier : 1669-1677.

AUTHIE E., 1984. Mise en évidence d'une résistance aux trypanocides parmi les souches de *Trypanosoma congolense* récemment isolées au Burkina Faso. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **37** (no. spécial): 219-235.

BAAJ A. J. et LAHLOU-AMINE I., 2002. Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Animalis*, **1**: 8-15.

BACCHI C.J., NATHAN H.C., HUTNER S.H., McCANN P.P. et SJOERDSMA A., 1980. Polyamine metabolism: a potential therapeutic target in trypanosomes. *Science*, **20**: 484-488.

BALDRY D.A.T., 1970. Observations on the peridomestic breeding behaviour and resting sites of *Glossina tachinoides* West. near Nsukka, East Central State, Nigeria. *Bulletin of Entomological Research*, **59**: 585-593.

BALIS J., 1977. Note sur la toxicité de l'isoméamidium par injection intraveineuse chez quelques mammifères domestiques et spécialement chez le dromadaire. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **30** (4): 373-375.

BALTZ T., BALTZ D., GIROND C. et CROCKETT J., 1985. Cultivation in a semi-defined medium of animal infective forms of *Trypanosoma brucei*, *T. equiperdum*, *T. evansi*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. *EMBO Journal*, **4- 5**: 1273-1277.

BANCE A., 2003. Efficacité et rémanence du triflumuron, inhibiteur de la synthèse de la chitine sur la glossine *Glossina palpalis gambiensis* dans une perspective de lutte autocide. Thèse de 3ème cycle, Sciences Biologiques Appliquées, Biologie et Ecologie animales. Université de Ouagadougou, UFR Sciences de la vie et de la terre 131p.

BARRETT J.C., 1997. Control strategies for African trypanosomiasis: their sustainability and effectiveness. In: HIDE G., MOTRAM J.C., COMBS G. H. et HOLMES P. H. Trypanosomiasis and Leishmaniasis. CAB International eds, Wallingford, 347-362.

BAUER B., 1971. Helicopter operations for controlling the tsetse fly in Africa. *Agricultural Aviation*, **12**: 51-56.

BENARD J. et RIOU G.F., 1980. *In vitro* effects of intercalating and monintercalating drugs on the tertiary structure of kinetoplast deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*, **19**: 4197-4201.

BENGALY Z., KASBARI M., DESQUESNES M. et SIDIBE I., 2001. Validation of a polymerase chain reaction assay for monitoring the therapeutic efficacy of diminazene aceturate in trypanosome-infected sheep. *Veterinary Parasitology*, **96**: 101-113.

BERTHE A.L., BLOKLAND A., BOUARE S., DIALLO B., DIARRA M.M., GEERLING C., MARIKO F., N'DJIM H. et SANOGO B., 1991. *Profil d'environnement Mali-Sud*. Bamako : Institut d'Économie Rurale. 79 p.

BETANCOURT A.E, RAMIREZ L.E., WELLS E.A., et BAZALAR H., 1979. La tecnica de centrifugacion en tubo capilar en el diagnostico de tripanosomiasis experimental. *Revista ICA Bogota* (Colombia) **14**: 97-104.

BOCQUENTIN R., DUVALLET C. et BALTZ T., 1989. Une méthode sensible de détection de trypanosomes : lyse avec détergent/centrifugation. In: 20^{ème} conférence de l'OUA/CSIRTC, Mombassa-Kenya, 10-14 avril 1989, *Publication* **115**: 142-148.

- BOLY H., THOMBIANO D., HUMBLLOT P., et THIBIER M., 1991.** Influence de *Trypanosoma congolense* sur la fonction sexuelle de taurins Baoulé. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, **44**: 475-480.
- BOYT W.P., 1986.** Guide pratique pour le diagnostic, le traitement et la prévention de la trypanosomiase animale africaine. FAO. Rome, 281 p.
- BRACK C. et DELAIN E., 1975.** Electron-microscopic mapping of AT-rich regions of *E. coli* RNA polymerase-binding sites on the circular kinetoplast DNA of *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Cell Science*, **17**: 287-306.
- BRODEN A., 1904.** Les infections à trypanosomes au Congo chez l'homme et les animaux (Communication préliminaire). *Bulletin de la Société d'Etudes Coloniales*, 116-139.
- CAMUS E., 1983.** Diagnostic de la trypanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hématocrite. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, **2**: 751-769.
- CARTER N.S. et FAIRLAMB A.H., 1993.** Arsenical-resistant trypanosomes lack an usual adenosine transporter. *Nature*, **361**: 173-176.
- CASERO R.A.Jr., PORTER C.W. et BERNACKI R.J., 1982.** Activity of tunicamycin against *Trypanosoma brucei* *in vitro* and *in vivo*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **22**: 1008-1011.
- CHALLIER A., 1980.** Ecology and epidemiological importance of *Glossina palpalis* in the Ivory Coast forest zone. *Insect Science and its Applications*, **1**: 77-83.
- CHALLIER A. et LAVEISSIERE C., 1973.** Un nouveau piège pour la capture des glossines (*Glossina* : Diptera, Muscidae) : description et essais sur le terrain. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie médicale et Parasitologie* **10** (4): 251-262.
- CHALLIER A., EYRAUD M., LAFAYE A. et LAVEISSIERE C., 1977.** Amélioration du rendement du piège biconique pour glossines (Diptera : Glossinidae) par l'emploi d'un cône inférieur bleu. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie médicale et Parasitologie* **15**: 283-286.
- CHICOTEAU P., BASSINGA A., SIDIBE I., POBEL T., RICHARD X., et CLAUSEN P., 1990.** Influence de l'exposition à un risque trypanosomien élevé sur la reproduction des vaches Baoulé au Burkina Faso. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **43** (4): 473-477.

CIPEA, 1988. Productions animales dans les régions d'Afrique infestées par les glossines. Compte rendu de réunion, 23-27 novembre 1987. Nairobi, Kenya. CIPEA /ILRAD, 530 p.

CIRAD, 2004. La mouche tsé-tsé pédagogique. Montpellier : collection Les Savoirs Partagés, 56 p.

CLAUSEN P-H., PELLMANN C., SCHEER A., TIETJEN U., SCHARES G., BAUER B., PEREGRINE A.S. et MEHLITZ D., 2000. Application of *in-vitro* methods for the detection of drug resistance in trypanosome field isolates. *Newsletter on Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, **2**: 9-12.

CLAUSEN P-H., SIDIBE I., BASSINGA A., RICHARD X., BAUER B. et POHLIT H., 1993. Pathogenesis and pathology of African trypanosomiasis in Baoulé, N'Dama/Baoulé, cross bred and zebu cattle in Burkina Faso. 1. Clinical performance under high natural tsetse challenge. *Tropical Medicine and Parasitology*, **44**: 99-107.

CLAUSEN P-H., SIDIBE I., KABORE I. et BAUER B., 1992. Development of multiple drug resistance of *Trypanosoma congolense* in Zebu cattle under high natural tsetse fly challenge in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso. *Acta Tropica*, **51**: 229-236.

CODJIA V. et DE LA ROCQUE S., 2001. Programme de lutte contre la trypanosomose africaine (PLTA). In: Utilisation des trypanocides en Afrique subsaharienne. Actes du séminaire sous-régional. Dakar, EISMV, du 06 au 09 février 2001, 45-46.

CONNOR R.J., 1991. The diagnosis, treatment and prevention of animal trypanosomiasis under field conditions. Proceedings of the FAO Panel of experts, Harare, Zimbabwe, 24-26 June 1991, 38 p.

CUISANCE D., 1991. Trypanosomoses : justifications pour le contrôle ou l'éradication. *FAO Animal Production and Health Paper*, **100**: 177-198.

CUISANCE D. et ITARD J., 1973. Lâchers de mâles stériles de *Glossina tachinoides* West. Dans un gîte naturel de faible densité (Bas-Logone, Cameroun). *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **26** (4): 405-422.

CUISANCE D., ITARD J., SOLANO P., DESQUESNES M., FREZIL J.L. et AUTHIE E., 2003. Trypanosomoses : Méthodes de lutte. In: Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail : Europe et Régions chaudes. Tome 2 : Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires. AUPELF-UREF, Paris, TEC et Doc Lavoisier, 1695-1724.

CUISANCE D., POLITZAR H., CLAIR M., SELLIN E et TAZE Y., 1978. Impact des lâchers de mâles stériles sur les niveaux de deux population sauvages de *Glossina palpalis gambiensis* en Haute Volta (Sources de la Volta Noire). *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **31** (3): 315-328.

CUISANCE D., POLITZAR H., CLAIR M., SELLIN E, TAZE Y., BOURDOISEAU G. et FEVRIER J., 1979. La lutte contre *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank par lâchers de mâles stériles en Haute Volta. Colloque international sur l'emploi des isotopes dans l'étude et la destruction des vecteurs des maladies animales, Vienne, I.A.E.A.

CUISANCE D., POLITZAR H., MEROT P. et TAMBOURA I., 1984. Les lâchers de mâles irradiés dans la campagne de lutte intégrée contre les glossines dans la zone agropastorale de Sidéradougou, Burkina Faso. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **37** (4): 449-468.

CUPOLILLO E., GRIMALDI Jr G., MOMEN H. et BEVERLEY S.M., 1995. Intergenetic region typing (IRT): A rapid molecular approach to the characterisation and evolution of *Leishmania*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, **73**: 145-155.

D'IETEREN J.D.M., AUTHIE E., WISSOCQ N. et MURRAY M., 1998. Trypanotolerance, an option for sustainable livestock production in areas at risk from trypanosomosis. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, **17** (1): 154-175.

DABIRE D., 2005. Communication et contrôle de la trypanosomose animale africaine : étude de cas des interrelations entre les agro-éleveurs et leurs prestataires de services vétérinaires dans la province du Kéné Dougou (Burkina Faso). Université de Ouagadougou, Département de Sociologie, Mémoire de Maîtrise ; 123 p.

DAO D., 2005. Déterminisme des facteurs humains dans le contrôle de la trypanosomose animale africaine : cas des agro-éleveurs du département de Mandiana en Haute Guinée. Université de Ouagadougou, Département de Sociologie, Mémoire de Maîtrise ; 108 p.

DARGIE I.D., MURRAY P.K., MURRAY M. et GRIWSHAW R., 1979. Bovine trypanosomiasis: The red cell kinetics of Ndama and Zebu cattle infected with *Trypanosoma congolense*. Canada: UN; 1979- 64 p.

DE LA ROCQUE S., 1997. Identification des facteurs discriminants majeurs de la présence des glossines dans une zone agro-pastorale du Burkina Faso. Intérêt pour la prévision du risque trypanosomien. Thèse de Doctorat en Biologie des Populations et

Ecologie (Parasitologie), Université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc ; 212 p.

DE LA ROCQUE S., 2001. Les moyens de lutte contre la trypanosomose animale. *In*: Utilisation des trypanocides en Afrique subsaharienne. Actes du séminaire sous-régional. Dakar, EISMV, du 06 au 09 février 2001, 38-43.

DE LA ROCQUE S., BENGALY Z., MICHEL J.F., SOLANO P., SIDIBE I. et CUISANCE D., 1999. Importance des interfaces spatiales et temporelles entre les bovins et les glossines dans la transmission de la trypanosomose animale en Afrique de l'Ouest. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **52** (3-4): 215-222.

DELESPAUX V., GEYSEN D. et GEERTS S., 2005. Diagnostic moléculaire de la résistance à l'isométnidium chez *Trypanosoma congolense*. *In*: 28^{ème} réunion du conseil scientifique international pour la recherche et la lutte contre les trypanosomoses, Addis Abeba, Ethiopie, 26-30 Septembre 2005.

DESQUESNES M., 1997. Les trypanosomoses du bétail en Amérique Latine, étude spéciale dans le plateau des Guyanes. Thèse pour le doctorat en Parasitologie, Lille, 26 septembre 1997; 409 p.

DESQUESNES M. et DAVILA A.M.R., 2002. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. *Veterinary Parasitology*, **109**: 213-231.

DESQUESNES M. et DE LA ROCQUE S., 1995. Comparaison de la sensibilité du test de WOO et d'un test de détection des antigènes de *Trypanosoma vivax* chez les moutons expérimentalement infectés avec une souche guyanaise du parasite. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **48**: 247-253.

DESQUESNES M., ITARD J., CUNY G., SOLANO P. et AUTHIE E., 2003. Trypanosomoses : Diagnostic. *In*: Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail : Europe et Régions chaudes. Tome 2 : Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires. AUPELF-UREF, Paris, TEC et Doc Lavoisier, 1679-1694.

DESQUESNES M., McLAUGHLIN G., ZOUNGRANA A. et DAVILA A.M.R., 2001. Detection and identification of *Trypanosoma* of african livestock through a single PCR based on the internal transcribed spacer 1 of rDNA. *International Journal for Parasitology*, **31**: 610-614.

DESQUESNES M., MICHEL J.F., DE LA ROCQUE, SOLANO P., MILLOGO L., BENGALY Z. et SIDIBE I., 1999. Enquête parasitologique et sérologique (Elisa-indirect)

sur les trypanosomes des bovins dans la zone de Sidéradougou, Burkina Faso. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **52** (3-4): 223-232.

DESQUESNES M., RAVEL S. et CUNY G., 2002. PCR identification of *Trypanosoma lewisi*, a common parasite of laboratory rats. *Kinetoplastid Biology and Disease*, **1**(2).

DFID/AHP, 2005. Tsetse plan & Tsetse Muse. Interactive computer programmes to help in the planning of tsetse control operations. UK DFID, CD-rom.

DIALLO O., 1997. Manuel technique sur l'utilisation des produits trypanocides. Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako- Mali. 32 p.

DIALLO O., 2001. Utilisation des trypanocides au Mali: Facteurs de risque de chimiorésistance. In: Utilisation des trypanocides en Afrique subsaharienne. Actes du séminaire sous-régional. Dakar, EISMV, du 06 au 09 février 2001, 125-130.

DIALLO O., CLAUSEN P-H., DIALLO B., MUENSTERMANN S., BOCOUM Z., DJITTEYE A., DIARRA B., BARRY A.M., BENGALY Z., AFFOIGNON H., RANDOLPH T.F. et McDERMOT J.J., 2003. Evaluation de la chimiorésistance des trypanosomes dans la zone sub-humide cotonnière de l'Afrique de l'Ouest. In: Proceedings of the 27th meeting of ISCTRC, Pretoria, October 2003, *Publication*, **122**: 427-432.

DIALLO O., NANTULYA V.M., LUCKINS A.G., DIARRA B. et KOUYATE B., 1992. Evaluation of mono- and polyclonal antibody-based antigen detection immunoassays for diagnosis of *Trypanosoma evansi* infection in the dromedary camel. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **45**: 149-153.

DIARRA B., 2001. Caractérisation de la sensibilité à l'isométymidium et au diminazène des phénotypes de trypanosomes isolés dans la province du Kéné Dougou au Burkina Faso. Thèse de doctorat de 3^e cycle, Parasitologie ; N° 253, UCAD-FST.

DIXON H., GINGER C.D. et WILLIAMSON J., 1971. The lipid metabolism of blood and culture forms of *Trypanosoma lewisi* and *Trypanosoma rhodesiense*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **39B**: 247-266.

DJITEYE A., MOLOO S.K., FOUA BI K., TOURE M., BOIRE S., BENGALY S., COULIBALY E., DIARRA M., TRAORE D., OUATTARA I. et COULIBALY Z., 1997. Réactualisation des données sur la répartition des glossines au Mali. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **50** (2): 126-132.

DJITEYE A., MOLOO S.K., FOUA BI K., COULIBALY E., DIARRA M., OUATTARA I., TRAORE D., COULIBALY Z. et DIARRA A., 1997. Variations saisonnières de la densité apparente et du taux d'infection par *Trypanosoma spp.* de *Glossina palpalis gambiensis* (Vanderplank, 1949) en zone soudanienne au Mali. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **50** (2): 133-137.

DOLAN R.B., OKECH G., ALUSHULA H., MUGUTI M., STEVENSON P.D. et NJOGU A.R., 1990. Homidium bromide as a chemoprophylactic for cattle trypanosomiasis in Kenya. *Acta Tropica*, **47**: 137-144.

DOLAN R.B., STEVENSON P.G.W., ALUSHULA H. et OKECH G., 1992. Failure of chemoprophylaxis against bovine trypanosomiasis on Galana ranch in Kenya. *Acta Tropica*, **51**: 113-121.

DUSZENKO M., FERGUSON M.A.J., LAMONT G.S., RIFKIN M.R. et CROSS G.A.M., 1985. Cysteine eliminates the feeder cell requirement for cultivation of *Trypanosoma brucei* bloodstream forms *in vitro*. *Journal of Experimental Medicine*, **162**: 1256-1263.

EISLER M.C., 1996. Pharmacokinetics of the chemoprophylactic and chemotherapeutic trypanocidal drug isometamidium chloride (Samorin) in cattle. *Drug Metabolism and Disposition*, **24** (12): 1355-1361.

EISLER M.C., AROWOLO R.O.A., GAULT E. A., MOLOO S.K., HOLMES P.H. et PEREGRINE A.S., 1994. Isometamidium concentrations in the sera of Boran cattle: correlation with prophylaxis against tsetse-transmitted *Trypanosoma congolense*. *Acta Tropica*, **56**: 39-50.

EISLER M.C., ELLIOT C.T. et HOLMES P.H., 1996a. A simple competitive enzyme immunoassay for the detection of the trypanocidal drug isometamidium. *Therapeutic Drug Monitoring*, **18**: 73-79.

EISLER M.C., GAULT E.A., MOLOO S.K., HOLMES P.H. et PEREGRINE A.S., 1997. Concentrations of isometamidium in the sera of cattle challenged with drug-resistant *Trypanosoma congolense*. *Acta Tropica*, **63**: 89-100.

EISLER M.C., GAULT E.A., SMITH H.V., PEREGRINE A.S. et HOLMES P.H., 1993. Evaluation and improvement of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of isometamidium in bovine serum. *Therapeutic Drug Monitoring*, **15**: 236-242.

EISLER M.C., MARUTA J., NQINDI J., CONNOR R.J., USHEWOKUNZE-OBATOLU U., HOLMES P.H. et PEREGRINE A.S., 1996b. Isometamidium

concentrations in the sera of cattle maintained under a chemoprophylactic regime in a tsetse area of Zimbabwe. *Tropical Medicine and International Health*, **1** (4): 535-541.

EISLER M.C., McDERMOTT J., MDACHI R., MURILLA G., SINYANGWE L., MACHILA N., MBODY WEIGHTAMBO., COLEMAN P.G., CLAUSEN P.-H., BAUER B., SIDIBE I., GEERTS S., HOLMES P.H. et PEREGRINE A.S., 2000. A rapid method for assessment of trypanocidal resistance in the field. 9th Symposium of International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE 9), Breckenridge, Colorado, 6-11 august.

EISLER M.C., NDUNG’U J.M., MURILLA G.A., MDACHI R.M., MBWAMBO H., SINYANGWE L., MACHILA N., DELESPAUX V., GEERTS S., BRANDT J., PEREGRINE A.S., McDERMOTT J.J. et HOLMES P.-H., 2000a. Area-wide appraisal of drug resistance in trypanosomes infecting cattle in East and Southern Africa. *Newsletter on Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, **2**: 16-18.

EMERY D.L., WELLS P.W. et TENYWA T., 1980. *Trypanosoma congolense*: specific transformation *in vitro* of leukocytes from infected or immunized cattle. *Experimental Parasitology*, **50**: 358-368.

EUZEBY J., 1986. Protozoologie médicale comparée, **1**: Généralités - Sarcostigophores (Flagellés, Rhizopodes) - Ciliés. Collections Marcel Mérieux, Lyon: 463 p.

FAIRCLOUGH R., 1962. A summary of the use of Berenil in Kenya. In: Proceedings of the 9th meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research, Conakry, Guinea, 1962. *CCTA Publication 88* : 81-86.

FAO, 2002. La situation mondiale de l’alimentation et de l’agriculture. Rome, 231 p.

FERENC S.A., STOPINNSKY V. et COURTNEY C.H., 1990. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* and its use in a seroepidemiological survey in the eastern Caribbean basin. *International Journal for Parasitology*, **20** (1) : 51-56.

FINELLE P. et YVORE P., 1962. Quelques observations sur la chimiorésistance. In: 9^{ème} réunion du Conseil Scientifique International pour la Recherche et la Lutte contre les Trypanosomiasés, Conakry. *CCTA Publication 88*: 107-110.

FRANCK-HENDERSON J., BATTELL M. L., ZOMBOR G.I. et KHO M.K.Y., 1977. Effects of ethidium catabolism and purine nucleotide synthesis in Ehrlich Ascites tumor cells *in vitro*. *Cancer Research*, **37**: 3434-3441.

FUSSGÄNGER R. et BAUER F., 1958. Berenil: ein neues chemotherapeuticum in der veterinärmedizin. *Med. u. Chem*, **6**: 504-531.

GARDINER P.R., 1989. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. *Advances in Parasitology*, **28**: 229-316.

GARDINER P.R., PEARSON T.W., CLARKE M.W. et MUTHALIA L.M., 1987. Identification and isolation of a variant surface glycoprotein from *Trypanosoma vivax*. *Science*, **235**: 774-777.

GEERTS S. et HOLMES P.H., 1998. Drug management and parasite resistance in bovine trypanosomiasis in Africa. PAAT Technical Sciences Series, N° 1 FAO, Rome, 31 p.

GEYSEN D., DELESPAUX V. et GEERTS S., 2002. PCR-RFLP using Ssu-rDNA amplifications as an easy methods for species-specific diagnosis of *Trypanosoma* species in cattle. *Veterinary Parasitology*, **110**: 171-180.

GIRGIS-TAKLA P. et JAMES D.M., 1974. *In vitro* uptake of isometamidium and diminazene of *Trypanosoma brucei*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **6**: 372-374.

HARGROVE J.W. et LANGLEY P.A., 1990. Sterilizing tsetse in the field: a successful trial. *Bulletin of Entomological Research*, **80**: 397-403.

HENDRICKX G. et NAPALA A., 1999. Le contrôle de la trypanosomose «à la carte» : une approche intégrée basée sur un Système d'Information Géographique. Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales, Mémoire in-8°, Nouvelle Série, Tome 24, fasc. 4, Bruxelles.

HIGUCHI R., 1989. PCR technology. In: Principles and applications for DNA amplification. Ed. H. A. ERLICH, Stockton Press, Stockton, U. K., 31-37.

HIRUMI H., HIRUMI K. et PEREGRINE A.S, 1993. Axenic culture of *Trypanosoma congolense*: an application to the detection of sensitivity levels of bloodstream trypomastigotes to diminazene aceturate, homidium chloride, isometamidium chloride and quinapyramine sulphate. *Journal of Protozoology Research*, **3**: 52-63.

HOARE C. A., 1972. The trypanosomes of mammals. A Zoological Monograph. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, U.K., 749 p.

HURSEY B.S. et SLINGENBERGH J., 1997. The tsetse fly and its effects on agriculture in sub-Saharan Africa. *Revue mondiale de zootechnie*, **84/85**: 67-73.

ILRAD, 1989. Rapport annuel, Nairobi, 105 p.

- ITARD J., 1981.** Les trypanosomoses animales africaines. In: Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Maisons-Alfort. France, IEMVT, 305-469.
- ITARD J., 1986.** Les glossines ou mouches tsé-tsé. IEMVT, Maisons-Alfort, Paris, France. 155 p.
- ITARD J., 2000.** Les trypanosomoses animales africaines. In: Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. AUPELF-UREF, Paris, TEC et Doc Lavoisier : 205-450.
- JAEGER W.K. et MALTON P.J., 1990.** Utilisation, profitability, and the adoption of animal draft power in West Africa. *American Journal of Agricultural Economics* **72**: 35-48.
- KAMINSKY R., GUMM I.D., ZWEYGARTH E. et CHUMA F., 1990.** A Drug Incubation Infectivity Test (DIIT) for assessing resistance in trypanosomes. *Veterinary Parasitology*, **34**: 335-343.
- KAUFMANN J., DWINGER R.H., HALLEBEEK A., VAN DIJK B. et PFISTER K., 1992.** The interaction of *Trypanosoma congolense* and *Haemonchus contortus* infections in trypanotolerant N'Dama cattle. *Veterinary Parasitology*, **43**: 157-170.
- KIDANEMARIAM A., HADGU K. et SAHLE M., 2002.** Parasitological prevalence of bovine trypanosomoses in Kindo Koisha district, Wollaita zone, South Ethiopia. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **69** (2): 107-113.
- KINABO L.D.B. et BOGAN J.A., 1987.** Binding of isometamidium to calf thymus DNA and lipids: pharmacological implications. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **10**: 357-362.
- KIRBY W.W., 1964.** Prophylaxis and therapy under continuous exposure to the risk of natural infection with trypanosomiasis by tsetse flies. *Bulletin of Epizootic Diseases of Africa*, **12**: 321-329.
- KOEMAN J.H., DEN BOER W.M.J., FEITH A.F., DE LONGH H.H., SPLIETHOFF P.C., NA'LSA B.K et SPIELBERGER U., 1978.** Three years observations on side effects of helicopter application of insecticides used to exterminate *Glossina* species in Nigeria. *Environmental Pollution*, **15**: 31-59.
- KUPPER W. et WOLTERS M., 1983.** Observations on drug resistance of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* and *Trypanosoma (Duttonella) vivax* in cattle at a feedlot in the Northern Ivory Coast. *Tropenmedizin und Parasitologie*, **34**: 203-205.

KUZOE F.A.S., 1991. Perspectives in research on control of African trypanosomiasis. *Annals of Tropical medicine and Parasitology*, **85** (1): 33- 41.

KUZOE F.A.S., BALDRY D.A.T., VAN DER VLOEDT A. et CULLENS J.R., 1985. Observation of an apparent population extension of *Glossina tachinoides* Westw. in Southern Ivory Coast. *Insect Science and its Application*, **6**: 55-58.

LANHAM S.M. et GODFREY D.G., 1970. Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEA-cellulose. *Experimental Parasitology*, **28**: 521-534

LAVEISSIERE C. et GREBAUT P., 1990. Recherche sur les pièges à glossine (Diptera : Glossinidae). Mise au point d'un modèle économique : le piège « Vavoua ». *Tropical Medicine and Parasitology*, **41**: 185-192.

LAVEISSIERE C., COURET D. et HERVOUET J.P., 1986. Localisation et fréquence du contact homme/glossines en secteur forestier de Côte d'Ivoire. 1. Recherche de points épidémiologiques dangereux dans l'environnement végétal. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie médicale et Parasitologie*, **24**: 21-35.

LAVEISSIERE C., COURET D. et KIENOU J.P., 1981. Lutte contre les glossines riveraines à l'aide des pièges biconiques imprégnés d'insecticide en zone de savane humide. 4. Expérimentation à grande échelle. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie médicale et Parasitologie*, **19**: 41-48.

LAVEISSIERE C., GREBAU P., HERDER S. et PENCHENIER L., 2000. Les glossines vectrices de la Trypanosomiase humaine africaine. IRD, France, 246 p.

LAVERAN A., 1902. Sur un nouveau trypanosome des bovidés. Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris, **134**: 512.

LEACH T.M. et ROBERTS C.J., 1981. Present status of chemotherapy and chemoprophylaxis of animal trypanosomiasis in the eastern hemisphere. *Pharmacology and Therapeutics*, **13**: 91-147.

LEACH T.M., KARIB A.A., FORD E.J.H. et WIHMSHURT E.C., 1955. Studies on ethidium bromide: VI. The prophylactic properties of the drug. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, **65**: 130-142.

LEAK S.G.A., 1999. Tsetse biology and ecology. Their role in the epidemiology and control of trypanosomosis. CABI publishing (CAB International) in association with the International Livestock research Institute, 568 p.

LUCKINS A.G., 1977. Detection of antibodies in trypanosome-infected cattle by means of a microplate enzyme-linked immunosorbent assay. *Tropical Animal Health and Production*, **9**: 53-62.

LUCKINS A.G., GRAY A.R. et RAE P.F., 1978. Comparison of the diagnostic value of serum immunoglobulin levels, an enzyme-linked immunosorbent assay and a fluorescent antibody test in experimental infections with *Trypanosoma evansi* in rabbits. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **72**: 429-441.

MacADAM R.F. et WILLIAMSON J., 1972. Drug effects on the structure of *Trypanosoma rhodesiense*: diamidines. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **66**: 897-904.

MARCUS S., KOPELMAN R., KOLL B. et BACCHI C., 1982. Effect of exogenous polyamine and trypanocide on the DNA polymerase activities from *T. brucei brucei*, mouse thymus and murine leukemia virus. *Parasitology*, **5**: 231-243.

MASIGA D.K., SMYTH A.J., HAYES P., BROMIDGE T.J., et GIBSON W.C., 1992. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *International Journal for Parasitology*, **22**: 909-912.

McDERMOTT J.J., SIDIBE I., BAUER B., DIARRA B., CLAUSEN P-H., WOITAG T., OUEDRAOGO D., KAMUANGA M., PEREGRINE A.S., EISLER M.C. et MEHLITZ D., 2000. Field studies on the development and impact of drug resistant animal trypanosomes in market-oriented production systems in the southern Guinean Zone of West Africa. *Newsletter on Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, **2**: 18-21.

McDERMOTT J., WOITAG T., SIDIBE I., BAUER B., DIARRA B., OUEDRAOGO D., KAMUANGA M., PEREGRINE A., EISLER M., ZESSIN K-H., MEHLITZ D. et CLAUSEN P-H., 2003. Field studies of drug-resistant cattle trypanosomes in Kéné Dougou Province, Burkina Faso. *Acta Tropica*, **86**: 93-103.

McLAUGHLIN G.L., SSEYONGA S.S., NANTEZA E., RUBAIRE AKIKI, WAFULA O., HANSEN R.D., VODKIN M.H., NOVAK R.J., GORDON V.R., MONTEGRO-JAMES M., AVILES H., ARMIJOS R., SANTRICH C., WEIGLE K., SARAVIA N., WOZNAK E., GAYE O., MDACHI R., SHAPIRO S.Z., CHANG K.P. et KAKOMA I., 1996. PCR-based detection and typing of parasites. In: *Parasitology for the 21st century*. OZCEL M.A. and ALKAN M.Z. eds., 261-287.

McLENNAN K.J.R., 1971. The apparatusemic interval following diminazene aceturate therapy of a relapsing strain of *T. vivax* infecting cattle. *Tropical Animal Health and Production*, **3**: 208-212.

MDACHI R.E., MURILLA G.A., OMUKUBA J.N., et CAGNOLATI V., 1995. Disposition of diminazene aceturate (Berenil®) in trypanosome-infected pregnant and lactating cows. *Veterinary Parasitology*, **58**: 215-225.

MEHLITZ D., 1986. Le réservoir animal de la maladie du sommeil à *Trypanosoma brucei gambiense*. Maisons-Alfort, IEMVT-CIRAD, 156 p. (Etude et Synthèse de l'I.E.M.V.T., **18**).

MEWONO L., 2004. Evaluation et validation des amorces ITS pour l'amélioration du diagnostic PCR des trypanosomoses animales africaines. Mémoire de DEA, Université de Ouagadougou, Sciences Biologiques appliquées, Biotechnologie Microbienne et cellulaire, 46 p.

MOLOO S., CHEMA S., CONNOR R., DURKIN J., KIMOTHU P., MAEHL MUKENDI F., MURRAY M., RARIEYA M. et TRAIL J., 1987. Efficacy of chemoprophylaxis for East African zebu cattle exposed to trypanosomiasis in village herds in Kenya. In: Proceedings of the 19th meeting of ISCTRC, Lomé 1987, OUA/STRC, Nairobi, *Publication* **114**: 282-287.

MORTELMANS J., 1986. Quelques aspects économiques en rapport avec la parasitologie vétérinaire. *Tropicultura*, **4**: 112-116.

MUBANGA J., 1996. Studies on chemoprophylaxis of trypanosomiasis using a competitive enzyme immunoassay for the detection of isometamidium and homidium in cattle and sheep. *MVM thesis*, University of Glasgow, 174 p.

MULUGETA W., WILKES J., MULATU W., MAJIWA P.A., MASAKE R. et PEREGRINE A.S., 1997. Long-term occurrence of *Trypanosoma congolense* resistant to diminazene, isometamidium and homidium in cattle at Ghibe, Ethiopia. *Acta Tropica*, **64**: 205-217.

MURRAY M. et DEXTER T.M., 1988. Anaemia in bovine African trypanosomiasis. *Acta Tropica*, **45**: 389-432.

MURRAY M., MURRAY P.K. et Mc INTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **71**: 325-326.

- N'DO S., 2006.** Etude comparée de la pathogénicité de quatre souches de *Trypanosoma congolense* chez les bovins. Mémoire de fin d'études. Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, IDR: Elevage; 53 p.
- NANTULYA V.M. et LINDQVIST K.J., 1989.** Antigen-detection enzyme immunoassays for diagnosis of *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* and *T. brucei* infections in cattle. *Tropical Medicine and Parasitology*, **40**: 267-272.
- NESSIEM M.G., 1994.** Evaluation of the silicone centrifugation technique in the detection of *Trypanosoma evansi* infection in camels and experimental animals. *Tropical Animal Health and Production*, **26**: 227-229.
- NEWTON B.A., 1972.** Recent studies on the mechanism of Berenil (diminazene) and related compounds. In: *Comparative Biochemistry of Parasites* (editor van den Bossche H.). Academic press, New York, 127-133.
- OMS, 2004.** Evaluation et surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué. OMS, Genève, Suisse, 68 p.
- OUEDRAOGO D., 2002.** Analyse socio-économique des pratiques de gestion de la trypanosomose animale et les facteurs associés au développement de la chimiorésistance dans la province de Kéné Dougou (Burkina Faso). Thèse de doctorat unique es-sciences économiques, Université de Ouagadougou -UFR/SEG.
- PANGUI L.J., 2001.** La trypanosomose : une contrainte majeure de l'élevage en Afrique subsaharienne. In: Utilisation des trypanocides en Afrique subsaharienne. Actes du séminaire sous-régional. Dakar, EISMV, du 06 au 09 février 2001, 30-33.
- PANYIM S., VISESHAKUL N., LUXANANIL P., WUYTS N. et CHOKESAJJAWATEE N., 1993.** A PCR method for highly sensitive detection of *Trypanosoma evansi* in blood samples. In: Resistance or tolerance of animals to diseases and veterinary epidemiology and diagnostic methods, Proceedings of EEC contractants workshops, Rethymno, Grèce, 1992, ed. CIRAD-EMVT; 138-143.
- PENCHENIER L., DUMAS V., GREBAUT P., REIFENBERG J.-M. et CUNY G., 1996.** Improvement of blood and fly gut processing for PCR diagnosis of trypanosomosis. *Parasite*, **4**: 387-389.
- PEREGRINE A.S., 1994.** Chemotherapy and delivery systems: haemoparasites. *Veterinary Parasitology*, **54**: 223-248.

PEREGRINE A.S. et MAMMAN M., 1993. Pharmacology of diminazene: a review : *Acta Tropica*, **54**: 185-203.

PEREGRINE A.S., KNOWLES G., IBITAYO A.I., SCOTT J.R., MOLOO S.K. et MURPHY N.B., 1991. Variation in resistance to isometamidium chloride and diminazene aceturate by clones derived from a stock of *Trypanosoma congolense*. *Parasitology*, **102**: 93-100.

PEREGRINE A.S., OGUNYEMI O., WHITELAW D.D., HOLMES P.H., MOLOO S.K., HIRUMI H., URQUHART G.M. et MURRAY M., 1988. Factors influencing the duration of isometamidium chloride (Samorin) prophylaxis against experimental challenge with metacyclic forms of *Trypanosoma congolense*. *Veterinary Parasitology*, **28**: 533-64.

PETROVSKII V.V., 1974. Current problems in the eradication of trypanosomal infections. *Veterinary*, **5**: 68-78.

PINDER M. et AUTHIE E., 1984. The appearance of isometamidium resistant *Trypanosoma congolense* in West Africa. *Acta Tropica*, **41**: 247-252.

PLIMMER H.G. et BRADFORD J.R., 1899. A preliminary note on the morphology and distribution of the organism found in the tsetse fly disease. Proceedings of the Royal Society of London, B **65**, 274.

POLITZAR H. et CUISANCE D., 1982. SIT in the control and eradication of *Glossina palpalis gambiensis*. In: IAEA Proceedings of Conference on sterile male insect release for insect pest control, 101-109.

POLITZAR H. et CUISANCE D., 1984. An integrated campaign against riverine tsetse flies *Glossina palpalis gambiensis* and *Glossina tachinoides* by trapping and the release of sterile males. *Insect Science and its Application* **5**: 439-442.

POLLOCK J.N., 2000. Manuel de lutte contre la mouche tsé-tsé. FAO (Rome). Volume 1: Biologie, systématique et répartition des tsé-tsés. 308 p.

RAE P.F. et LUCKINS A.G., 1984. Detection of circulating trypanosomal antigens by enzyme immunoassays. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **78**: 587-596.

RICHARDSON J. P., 1973. Mechanism of ethidium bromide inhibition of RNA of polymerase. *Journal of Molecular Biology*, **78**: 703-714.

ROVIS L., BARBET A.F. et WILLIAMS R.O., 1978. Characterisation of the surface coat of *Trypanosoma congolense*. *Nature*, **271**: 654-656.

ROWLANDS G.J., 2000. Detecting drug resistance of trypanosomal infections to diminazene aceturate- a possible field test? *Newsletter of Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, 2 April.

ROWLANDS G.J., WUDYALEW M., AUTHIE E, D'IETEREN G.D.M., LEAK S.G.A., NAGDA S.M. et PEREGRINE A.S., 1993. Epidemiology of bovine trypanosomiasis in the Ghibe valley, southwest Ethiopia. 2. Factors associated with variations in trypanosome prevalence, incidence of new infections and prevalence of recurrent infections. *Acta Tropica*, **53**: 135-150.

SHAPIRO T.A. et ENGLUND P.T., 1990. Selective cleavage of kinetoplast DNA minicircles promoted by antitrypanosomal drugs. *In*: Proceedings of the national Academy of Science, **87**: 950-954.

SHIMELIS DAGNACHEW, SANGWAN A.K. et GETACHEW ABEBE, 2005. Epidemiology of bovine trypanosomoses in the Abay (Blue Nile) basin areas of Northwest Ethiopia. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **58** (3): 151-157.

SIDIBE I., 1996. Variabilité génétique de *Trypanosoma congolense*, agent de la trypanosomose animale : implications taxonomiques et épidémiologiques. Thèse de doctorat ès Sciences, Université Montpellier II, 92 p + annexes.

SIDIBE I. et DESQUESNES M., 2003. Les trypanosomes du bétail. *In*: Etudes épidémiologiques des trypanosomoses bovines et suivi-évaluation des campagnes de lutte. Bobo-Dioulasso, CIRDES, Cours international de formation du 31 mars au 17 avril 2003, 1-20.

SIDIBE I., SOW A., MEWONO L. et BENGALY Z., 2005. Validation de la PCR-ELISA et des amorces ITS. *In*: Rapport d'activités. CIRDES, 30 p.

SINGH V, GAHLOT A.K. et CHHABRA M.B., 1994. Evaluation of some sero-diagnostic tests for *Trypanosoma evansi* infection in camel. *Journal of Camel Practice and Research* **1**: 30-33.

SINGH V., CHAUDHARI S.S., KUMAR S. et CHHABRA M., 1995. Polyclonal antibody-based antigen-detection immunoassay for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in buffaloes and horses. *Veterinary Parasitology*, **56**: 261-267.

SOLANO P., CUNY G., DUVALLET G., CUISANCE D., RAVEL S., SIDIBE I. et TOURE S.M., 1997. Les techniques de génétique moléculaire au service de l'épidémiologie des trypanosomes. Intérêt de l'étude du polymorphisme des microsatellites

des glossines. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **50** (4): 297-301.

SOLANO P., MICHEL J.F., LEFRANCOIS T., DE LA ROCQUES S., SIDIBE I., ZOUNGRANA A. et CUISANCE D., 1999. Polymerase Chain Reaction as diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Veterinary Parasitology*, **86**: 95-103.

SONES R. K., NJOGU A. R. et HOLMES P. H., 1988. Assessment of sensitivity of *Trypanosoma congolense* to isometamidium chloride: a comparison of tests using cattle and mice. *Acta Tropica*, **45**: 153-164.

SOULEY KOUATO B., 2005. Evaluation du diagnostic par PCR directe et PCR-ELISA sur les ITS des trypanosomes pathogènes du bétail. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Thèse de doctorat vétérinaire, N° 32, 115 p.

STAACK C. et LOHDING A., 1979. The complement fixation test and African trypanosomiasis: 1. Experimental infection and re-infection in cattle before and after treatment. *Tropical Medicine and Parasitology*, **30**: 13-18.

SUTHERLAND I.A., MOLOO S.K., HOLMES P.H. et PEREGRINE A.S., 1991. Therapeutic and prophylactic activity of isometamidium chloride against a tsetse-transmitted drug-resistant clone of *Trypanosoma congolense* in Boran cattle. *Acta Tropica*, **49**: 57-64.

SWALLOW B.M., 2000. Impacts of trypanosomiasis on african agriculture. PAAT Technical and scientific series 2. FAO, Rome, Italy, 52 p.

TAKKEN W., BALK F., JANSEN R.C. et KOEMAN J.H., 1978. The experimental application of insecticides from a helicopter from the control of riverine populations of *Glossina tachinoides* in West Africa. VI. Observations on side effects. *PANS*, **24**: 455-466.

TALAKI E., SIDIBE I., DIALL O., GRACE D., BARRY A.M., DJITEYE A., BOCOUM Z., CLAUSEN P-H., RANDOLPH T., AFFOIGNON H., HENDRICKX G., PANGUI L.J. et BELEM A.M.G., 2006. Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, **4** (1-2): 45-50.

TEKO-AGBO A., 2003. Le contrôle des trypanosomoses animales et la qualité des trypanocides : cas du Bénin et du Togo. Mémoire de DEA de Biologie Animale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, FST ; 53 p.

- TEWELDE N., ABEBE G., EISLER M., McDERMOTT J., GREINER M., AFEWORK Y., KYULE M., MÜNSTERMANN S., ZESSIN K-H. et CLAUSEN, P-H., 2004.** Application of field methods to assess isometamidium resistance of trypanosomes in cattle in western Ethiopia. *Acta Tropica* **90**: 163-170.
- TORO M., LEON E. et LOPEZ R., 1981.** Haematocrit centrifugation technique for the diagnosis of bovine trypanosomiasis. *Veterinary Parasitology*, **8**: 23-29.
- TOURE S.M., 1973.** Notes on the trypanocidal activity of isometamidium administered intravenously. *Bulletin of Epizootic Diseases of Africa*, **21**: 1-3.
- TOURE S.M., GUEYE A. et SEYE M., 1978.** Expérience de pathologie comparée entre les bovins zébus et N'Dama soumis à l'infection naturelle par des trypanosomes pathogènes. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **31**: 293-313.
- TRAIL J.C.M., D'IETEREN G.D.M., FERON A., KAKIESE O., MULUNGO M. et PELO M., 1991.** Effect of trypanosome infection, control of parasitemia and control of anemia development on productivity of N'Dama cattle. *Acta Tropica*, **48**: 37-45.
- TRAIL J.C.M., MURRAY M., SONES K., JIBBO J.M.C., DARKIN J. et LIGHT D., 1985.** Boran cattle maintained by chemoprophylaxis under trypanosomiasis risk. *Journal of Agricultural Science*, **105**: 147-166.
- UILENBERG G., 1998.** A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomosis. Rome, Italie, FAO, 158 p.
- URQUHART G.M., 1988.** The pathogenesis and immunology of African trypanosomiasis in domestic animals. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and hygiene. London: FAO; 76 p.
- VERY P., BOCQUENTIN R. et DUVALLET G., 1990.** Sensibilité de la double microcentrifugation pour la recherche des trypanosomes. *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, **43**: 325-329.
- VICKERMAN K., 1978.** Antigenic variation in trypanosomes. *Nature*, **273**: 613-617.
- VICKERMAN K.L. et LUCKINS A.G., 1969.** Localization of variable antigens on the surface coat of *Trypanosoma brucei* using ferritin-conjugated antibody. *Nature*, **224**: 1125-1126.
- VICKERMAN K., TETLEY L., HENRY K.A.K. et TURNER C.M.T., 1988.** Biology of the African trypanosomes in the tsetse fly. *Biology of the cell*, **64**: 109-119

- WAGNER T.T., 1971.** Physical studies on the interaction of lysergic acid diethylamide and trypanocidal dyes with DNA and DNA-containing genetic material. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, **2**: 152-162.
- WELLDE B.T., REARDON M.J. et CHUMO D.A., 1989.** Cerebral trypanosomiasis in naturally infected cattle in the lambwe Valley, South Nyanza, Kenya. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **83** (suppl. 1): 151-160.
- WHITELAW D.D., GARDINER P.R. et MURRAY M., 1988.** Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goat: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. *Parasitology*, **97**: 51-61.
- WHITELAW D.D., BELL I. R., HOLMES P.H., MOLOO S.K., HIRUMI H., URQUHART G.M. et MURRAY M., 1986.** Isometamidium chloride prophylaxis against *Trypanosoma congolense* challenge and the development of immune responses in Boran cattle. *Veterinary Record*, **118**: 722-726.
- WILLEMSE L., 1991.** A trial odour baited targets to control the tsetse fly *Glossina morsitans centralis* Machado (Diptera: Glossinidae) in West Zambia. *Bulletin of Entomological Research*, **81**: 351-357.
- WOO P.T.K., 1970.** The haematocrit centrifuge technique for diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Tropica*, **27**: 384-386.
- ZIEMANN H., 1905.** Beitrag zur Trypanosomenfrage. Cbl. Bakt. (I. Abt.), **38**: 307-429.

ANNEXES



Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée)

E. TALAKI¹✉, I. SIDIBE¹, O. DIALL², D. GRACE³, A.M. BARRY⁴, A. DJITEYE², Z. BOCOUM², P-H. CLAUSEN³, T. RANDOLPH⁶, H. AFFOIGNON⁷, G. HENDRICKX⁸, L.J. PANGUI⁹ et A.M.G. BELEM¹⁰

¹ Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) 01 B.P. 454 – Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

² Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), Mali

³ Université Libre de Berlin, Allemagne

⁴ DNE / IRAG, Guinée

⁵ Unité de Lutte Contre la Trypanosomose (ULCT) de Bamako, Mali

⁶ International Livestock Research Institute (ILRI) Nairobi, Kenya

⁷ Université d'Hannover, Allemagne

⁸ Agri-Veterinary Intelligence and Analysis (Avia GIS), Belgique

⁹ Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar, Sénégal

¹⁰ Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

✉ Correspondance et tirés à part, e-mail : talakiessodina@yahoo.fr

Résumé

Des enquêtes transversales (2002-2004) réalisées dans 89 villages, ont porté sur 5 474 bovins et 1 908 glossines (*G. palpalis*: 53% ; *G. tachinoïdes*: 45% et *G. morsitans*: 2%) ont été capturées. Suite à ces enquêtes, plusieurs villages suspects ont fait l'objet des enquêtes longitudinales pour mettre en évidence les échecs de traitements aux trypanocides (chlorure d'isométymidium et acéturate de diminazène) sur des bovins. L'analyse spatiale des résultats dénote une hétérogénéité dans la répartition. L'ampleur du phénomène décroît de l'Est à l'Ouest de la zone. Au Mali, la prévalence parasitologique moyenne est de 4,5% pour une valeur maximale de 22% contre une prévalence moyenne de 2,8% pour une valeur maximale de 11,7% en Guinée. Les infections au Mali sont dues à *T. congolense* (49%) et *T. vivax* (51%). Celles de la Guinée se caractérisent par la prédominance de *T. brucei* (59%) suivi de *T. congolense* (36%) et *T. vivax* (5%). Sur le plan entomologique, on note l'absence de *G. morsitans* dans la partie Est au Mali, alors qu'en Guinée c'est *G. tachinoïdes* qui est absente. Différents niveaux de chimiorésistance ont été identifiés dans la zone. (*RASPA*, 4 (1-2) : 45-50).

Mots-clés : Trypanosomoses animales - Chimiorésistance - Afrique de l'Ouest

Abstract

Spatial distribution of the animal's trypanosomoses in relation with the chemoresistance in the cotton belt of the West Africa (Mali and Guinea)

Cross sectional surveys (2002-2004) achieved in 89 villages, carried on 5 474 cattle and 1 908 tse tse flies (*G. palpalis*: 53%; *G. tachinoïdes*: 45% and *G. morsitans*: 2%) have been captured. Following these investigations, several suspected villages have been chosen for longitudinal surveys in order to put out the failures of treatments to the trypanocides (isometamidium chloride and diminazene aceturate) on cattle. The spatial analysis of the results shows heterogeneity in the distribution. The size of the phenomenon decreases from the East to the West of the zone. In Mali, the average parasitological prevalence is 4.5% for a peak value of 22% against an average prevalence of 2.8% for a peak value of 11.7% in Guinea. The infections in Mali are caused by *T. congolense* (49%) and *T. vivax* (51%). Those of Guinea are characterized by the predominance of *T. brucei* (59%) followed of *T. congolense* (36%) and *T. vivax* (5%). On the entomological plan, one notices the absence of *G. morsitans* in the East part in Mali, but in Guinea it is *G. tachinoïdes* who is absent. Different levels of chemoresistance have been identified in the zone.

Key-Words: Animal's trypanosomoses - Chemoresistance - West Africa.

Introduction

Les trypanosomoses animales africaines (TAA) demeurent encore une des contraintes majeures au développement de l'élevage en Afrique subsaharienne. Les stratégies de lutte contre ces maladies consistent à agir soit sur le vecteur, soit à utiliser la résistance naturelle de certains animaux en y associant la gestion des parcours afin d'éviter le contact avec les glossines, soit enfin à agir sur l'agent causal par l'utilisation des trypanocides. La lutte contre les vecteurs étant difficile, la chimiothérapie reste le moyen le plus utilisé dans la lutte contre ces maladies. Cependant, cette chimiothérapie s'appuie sur des molécules anciennes et en nombre réduit [10] dont l'utilisation répétée et parfois inappropriée, a conduit dans certaines régions à l'émergence de la chimiorésistance des trypanosomes [9].

Au Burkina Faso, et plus particulièrement dans la province du Kéné Dougou, la résistance aux trypanocides a pu être identifiée dans la zone pastorale de Samorogouan [4] puis dans d'autres localités dans le cadre des activités de la première phase du projet BMZ [7], [14], [18]. Par contre, la situation épidémiologique de ce phénomène restait peu ou pas du tout connue dans le reste de la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest.

C'est dans ce sens que, la présente étude a été entreprise dans la seconde phase du projet ILRI/BMZ, qui est financé par la Coopération allemande et exécuté par l'ILRI en partenariat avec plusieurs institutions de recherche et de développement nationales ou internationales dont le CIRDES au Burkina-Faso.

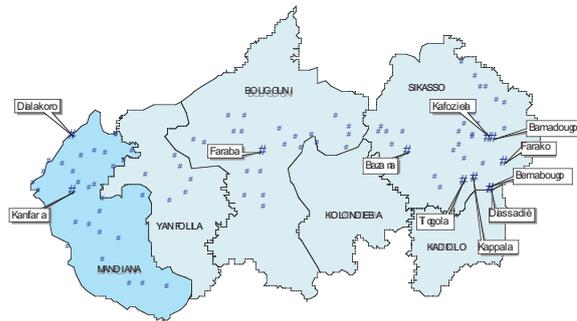


Figure 2 : Prévalence des TAA chez les bovins

La prévalence parasitologique moyenne obtenue est à peu près la même (2,9% dans la zone Bougouni-Yanfolila et 2,8% à Mandiana) pour une valeur maximale de 11,7% obtenue à la fois à Faraba (Bougouni) et à Dialakoro (Mandiana) (figures 2 et 3). Statistiquement au seuil 5%, la situation observée à Sikasso Est et Sikasso Ouest est la même alors qu'elle est bien différente à celle observée dans les zones Bougouni-Yanfolila et Mandiana (tableau 1). Ces prévalences ont été obtenues sur la base des résultats parasitologiques par la technique parasitologique classique (BCT). Cette technique utilisée, est reconnue être sensible pour un diagnostic de terrain et permet d'identifier de façon rapide les animaux dont les parasitémies sont de l'ordre de 300 à 700 trypanosomes par ml [3], [20], [21]. Cependant, des parasitémies peuvent être faibles et échapper à cet examen direct [5], [15], [22]. Par ailleurs, des analyses complémentaires par PCR (Polymérase Chain Reaction) avec les amorces spécifiques des parasites pourraient permettre d'indiquer des prévalences pouvant atteindre 2,5 fois supérieures à celles décelées par la technique parasitologique classique [6],[13], [19].

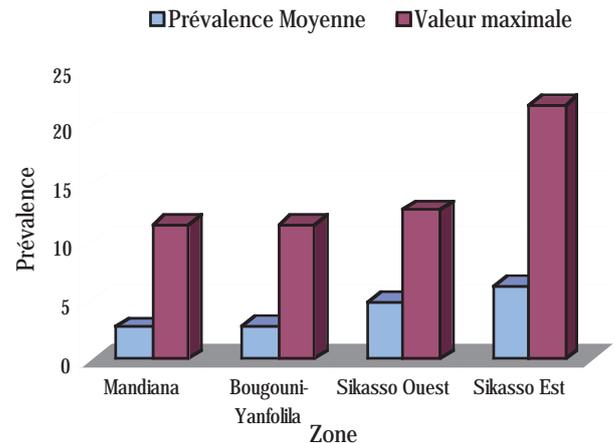


Figure 3 : Prévalence des TAA

Tableau I : Comparaison des prévalences moyennes entre les différentes zones (test de khi deux au seuil de 5%)

Zone	Sikasso Est	Sikasso Ouest	Bougouni-Yanfolila	Mandiana
Sikasso Est	-	Khi deux = 1,131 Différence non significative	Khi deux = 21,916 Différence Significative	Khi deux = 20,842 Différence Significative
Sikasso Ouest	Khi deux = 1,131 Différence non significative	-	Khi deux = 4,515 Différence Significative	Khi deux = 4,469 Différence Significative
Bougouni-Yanfolila	Khi deux = 21,916 Différence Significative	Khi deux = 4,515 Différence Significative	-	Khi deux = 0,001 Différence non significative
Mandiana	Khi deux = 20,842 Différence Significative	Khi deux = 4,469 Différence Significative	Khi deux = 0,001 Différence non significative	-

1.2. Espèces de trypanosomes

Trois espèces de trypanosomes pathogènes ont été rencontrées : *Typanosoma congolense*, *Typanosoma vivax* et *Typanosoma brucei*. Cependant, la répartition des différentes espèces n'est pas la même. Sur un total de 5 474 bovins examinés, 206 infections ont été enregistrées avec parfois des infections mixtes. Au Mali, ces infections sont dues à *Typanosoma congolense* dans 49% des cas et à *Typanosoma vivax* dans 51% des cas. Ces résultats obtenus au Mali, se rapprochent plus à ceux des travaux antérieurs réalisés au Burkina Faso dans la zone de Sidéradougou [6] et dans la province du Kéné Dougou [7], où *Typanosoma vivax* et *Typanosoma congolense* sont rapportés être les deux principales espèces de trypanosomes rencontrées avec parfois la présence de *Typanosoma brucei*. Par contre, les infections enregistrées dans le cas de notre étude en Guinée, se caractérisent par la prédominance de *Typanosoma brucei* enregistré dans 59% des cas suivi de *Typanosoma congolense* rencontré dans 36% des cas et enfin *Typanosoma vivax* avec 5% de cas (figure 4). En effet, la population bovine à Mandiana est presque totalement constituée de taurins N'Dama reconnus pour leur caractère trypanotolérant. De ce fait, ces animaux pourraient facilement héberger *Typanosoma brucei* peu pathogène, sans expression de signes cliniques de la maladie, limitant ainsi le besoin des traitements aux infections causées par les autres espèces plus pathogènes.

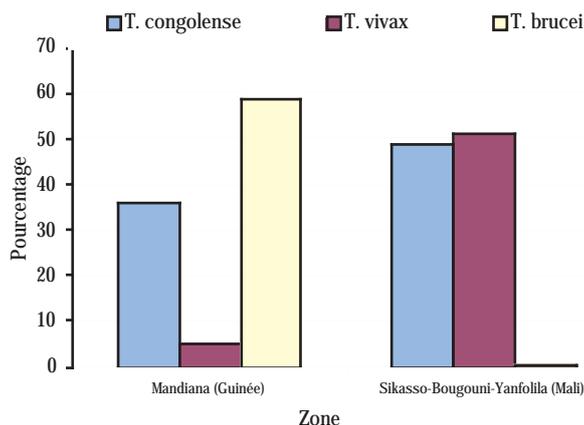


Figure 4 : Pourcentage des infections par espèce parasitaire

2. HÉMATOCRITE (PACKED CELL VOLUME: PCV)

Les valeurs moyennes des PCV enregistrées par zone ainsi que les intervalles de confiance sont consignés dans le tableau II. Le PCV moyen calculé par zone varie entre $24,1 \pm 0,085$ et $29,9 \pm 0,075$ et croît progressivement de l'Est à l'Ouest. La comparaison entre ces valeurs moyennes démontre qu'il n'y a pas de différence entre le PCV moyen enregistré à Sikasso Ouest et dans la zone Bougouni-Yanfolila.

Cependant, ce PCV moyen diffère significativement entre les autres zones (tableau III). Cette variation de ces valeurs moyennes pourrait s'expliquer d'une part, par la décroissance de la prévalence de l'Est à l'Ouest de la zone, et d'autre part, par le type de bétail élevé dans chaque zone. En effet, en se déplaçant de l'Est à l'Ouest de la zone, l'introduction du sang N'dama dans la population bovine devient de plus en plus important et qu'à Mandiana (Guinée) le bétail devient essentiellement constitué de la race N'dama reconnue pour son caractère trypanotolérant. Le degré d'anémie, établi par la méthode du micro-hématocrite, est une mesure fiable de l'état général d'un animal atteint de trypanosomoses [16]. Cependant, plusieurs facteurs comme l'alimentations et certaines parasitoses (helminthoses, babésiose, présence de tiques, etc...) peuvent affecter la valeur de l'hématocrite d'un animal ; et que, même chez le bétail trypanotolérant, le degré d'anémie développé dépend de l'état nutritionnel et de l'âge de l'animal [1], [2], [12].

3. ENTOMOLOGIE

Au total, 1 908 glossines ont été capturées avec une prédominance de *Glossina palpalis* qui représente 53% des captures, suivi de *Glossina tachinoïdes* (45%) et enfin de *Glossina morsitans* (2%). Ces résultats entomologiques présentent aussi une hétérogénéité dans leur répartition spatiale. Deux espèces riveraines (*Glossina palpalis* et *Glossina tachinoïdes*) et une espèce de savane (*Glossina morsitans*) ont été capturées. *Glossina palpalis* est retrouvée dans toute la zone et constitue l'unique espèce capturée dans la zone Sikasso Ouest (DAP = 2,48) et l'espèce majoritaire dans la zone Bougouni-Yanfolila (DAP = 1,38) et à Mandiana (DAP = 1,23). *Glossina tachinoïdes* quant à elle, n'a été capturée que du côté du territoire malien avec une densité apparente par piège de 2,74 à Sikasso Est et de 0,64 dans la zone Bougouni-Yanfolila. Enfin, pour l'espèce de savane (*Glossina morsitans*) une densité apparente par piège de 0,09 a été obtenue à Mandiana (figure 5). Signalons que dans la zone intermédiaire (Sikasso Ouest et Bougouni-Yanfolila), il n'y a pas eu de piégeage dans la savane sur la base des connaissances antérieures. Six (06) femelles *Glossina morsitans* ont été capturées en galerie dans la région zone Bougouni-Yanfolila.

De ces résultats entomologiques, il convient de préciser que la non capture d'une espèce de glossines dans une zone ne devrait automatiquement pas conclure à l'absence de ladite espèce dans cette zone. Il peut s'agir d'absence réelle de l'espèce concernée ou de densités sous le seuil mesurable [11]. Néanmoins, ces résultats confirment le constat déjà fait sur la régression de la seule espèce de savane historiquement présente au Mali qui est *Glossina morsitans* [8].

Tableau II : PCV moyen enregistré par zone

Zone	Nombre de village	Nombre de bovin	PCV moyen	Déviati on standard	Intervalle de confiance ($\alpha=0,05$)
Sikasso Est	25	1238	24,1	1,534	24,1 + 0,085
Sikasso Ouest	6	435	27,2	2,079	27,2 + 0,195
Bougouni-Yanfolila	28	2001	27,3	1,546	27,3 + 0,068
Mandiana	30	1800	29,9	1,620	29,9 + 0,075

Tableau III : Comparaison des PCV moyens par zone (écart réduit au seuil de 5%)

Zone	Sikasso Est	Sikasso Ouest	Bougouni-Yanfolila	Mandiana
Sikasso Est	-	Différence significative	Différence significative	Différence significative
Sikasso Ouest	Différence significative	-	Différence non significative	Différence significative
Bougouni-Yanfolila	Différence significative	Différence non significative	-	Différence significative
Mandiana	Différence significative	Différence significative	Différence significative	-

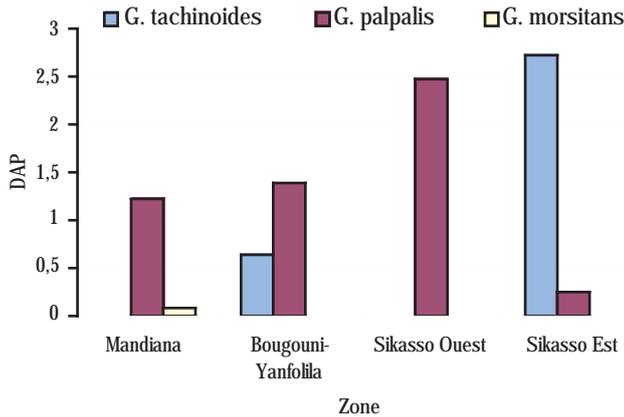


Figure 5 : DAP par espèce de glossine



Figure 6 : Chimiorésistance des TAA à l'ISMM dans la ceinture cotonnière au Mali et en Guinée

4. CHIMIORÉSISTANCE

La chimiorésistance est définie comme la perte héréditaire de sensibilité d'une population de micro-organismes à un produit auquel elle était préalablement sensible. Les résultats sur la chimiorésistance ont été obtenus à la suite des enquêtes longitudinales menées pour mettre en évidence les échecs de traitement. Au total 19 villages (13 villages à Sikasso Est, 03 villages dans la zone Bougouni-Yanfolila et 03 villages à Mandiana) ont fait l'objet de l'étude de la chimiorésistance. Sur ces 19 villages, les résultats ont révélé la présence de la chimiorésistance à l'isométabidum (ISMM) dans 07 villages (04 villages à Sikasso, 02 villages dans la zone Bougouni-Yanfolila et 01 village à Mandiana) soit environ plus du 1/3 des villages étudiés. Ces mêmes résultats ont conclu une suspicion de chimiorésistance dans 08 villages (06 villages à Sikasso, 01 village dans la zone Bougouni-Yanfolila et 02 villages à Mandiana). Il s'agit d'une suspicion, car de nouveaux cas ont été enregistrés dans le lot traité à l'ISMM avant 28 ou 56 jours mais la différence observée entre l'incidence dans le lot traité et dans le lot non traité n'est pas significative (seuil 5%). Une absence de chimiorésistance est révélée dans 04 villages dans la préfecture de Sikasso sur un total de 14 villages étudiés (figures 6 et 7). Dans ces 04 localités, la différence de l'incidence entre les deux groupes d'animaux (traités et non traités) est significative au seuil 5%.

L'analyse statistique des données issues d'enquêtes longitudinales, basées sur le traitement et le suivi des infections de deux lots de bovins naturellement exposés nous a permis de faire une évaluation de la résistance à l'ISMM. Toutefois, la sensibilité du test pourrait être améliorée en ciblant la période de forte transmission et/ou en augmentant la taille de l'échantillon (100 bovins par lot).



Figure 7 : Chimiorésistance des TAA à l'ISMM dans la zone de Sikasso

Conclusion

Cette étude décrit la situation épidémiologique des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la ceinture cotonnière de l'Afrique de l'Ouest allant du Mali (Sikasso) jusqu'en Guinée (Mandiana). La répartition spatiale montre un gradient décroissant de la maladie de l'Est à l'Ouest de la zone. Cependant, la chimiorésistance à l'isométabidum a été révélée dans les zones à hautes et à basses prévalences.

Remerciements

Nous tenons à remercier :

- la Coopération Allemande qui a financée cette étude sous le projet, ILRI/BMZ-2,
- le Livestock Research Institute (ILRI) qui est l'institut coordonnateur du projet,
- le Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) et les autres institutions de recherche et de développement partenaires de l'ILRI pour l'exécution dudit projet.

Bibliographie

- 1- AGYEMANG K., DWINGER R. H., LITTLE D. A. et al., 1991: Interaction between physiological status in N'Dama cows and trypanosome infections and its effect on health and productivity of cattle in Gambia. *Acta Tropica*, **50**: 91-99.
- 2- AGYEMANG K., DWINGER R. H., TOURAY B. N. et al., 1990: Effects of nutrition on degree of anaemia and live weight in N'Dama cattle infected with trypanosomes. *Livest. Prod. Sci.*, **26**: 39-51.
- 3- CAMUS E., 1983: Diagnostic de la trypanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hématocrite. *Rev. sc. tech. Off. int. Epiz.*, **2** : 751-769.
- 4- CLAUSEN P. H., SIDIBE I., KABORE I. et BAUER B., 1992: Development of multiple drug resistance of *Typanosoma congolense* in Zebu cattle under high natural tsetse fly challenge in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso. *Acta Tropica*, **51**: 229-236.
- 5- DESQUESNES M. et DE LA ROCQUE S., 1995: Comparaison de la sensibilité du test de WOO et d'un test de détection des antigènes de *Typanosoma vivax* chez les moutons expérimentalement infectés avec une souche guyanaise du parasite. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **48** : 247-253.
- 6- DESQUESNES M., MICHEL J. F., DE LA ROCQUE et al., 1999: Enquête parasitologique et sérologique (Elisa-indirect) sur les trypanosomes des bovins dans la zone de Sidéradougou, Burkina Faso. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52** (3-4) : 223-232.
- 7- DIARRA B., 2001: Caractérisation de la sensibilité à l'isométidium et au diminazène des phénotypes de trypanosomes isolés dans la province du Kéné Dougou au Burkina Faso. Thèse de doctorat de 3^e cycle, Parasitologie ; N° 253, UCAD-FST.
- 8- DJITEYE A., MOLOO S. K., FOUA BI K. et al., 1997 : Réactualisation des données sur la répartition des glossines au Mali. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **50** (2): 126-132.
- 9- EISLER M. C., NDUNG'U J. M., MURILLA G. A. et al., 2000: Area-wide appraisal of drug resistance in trypanosomes infecting cattle in East and Southern Africa. *Newsletter on Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, **2**: 16-18.
- 10- GEERTS S. et HOLMES P. H., 1998: Drug management and parasite resistance in bovine trypanosomiasis in Africa. PAAT Technical Sciences Series, N° 1 FAO, Rome, 31 p.
- 11- HENDRICKX G. et NAPALA A., 1999: Le contrôle de la trypanosomose «à la carte» : une approche intégrée basée sur un Système d'Information Géographique, Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales, Mémoire in-8°, Nouvelle Série, Tome 24, fasc. 4, Bruxelles.
- 12- KAUFMANN J., DWINGER R. H., HALLEBEEK A. et al., 1992: The interaction of *Typanosoma congolense* and *Haemonchus contortus* infections in trypanotolerant N'Dama cattle. *Vet. Parasitol.*, **43**: 157-170.
- 13- MASIGA D. K., SMYTH A. J., HAYES P. et al., 1992: Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.*, **22**: 909-912.
- 14- McDERMOTT J. J., SIDIBE I., BAUER B. et al., 2000: Field studies on the development and impact of drug resistant animal trypanosomes in market-oriented production systems in the southern Guinean Zone of West Africa. *ICPTV* **2**: 18-21.
- 15- MCLENNAN K. J. R., 1971: The parasitemic interval following diminazene aceturate therapy of a relapsing strain of *T. vivax* infecting cattle. *Trop. Anim. Health Prod.*, **3**: 208-212.
- 16- MURRAY M. et DEXTER T. M., 1988: Anaemia in bovine African trypanosomiasis. *Acta Tropica*, **45**: 389-432.
- 17- MURRAY M., MURRAY P. K. et Mc INTYRE W. I. M., 1977: An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **71**. 325-326.
- 18- OUEDRAOGO D., 2002: Analyse socio-économique des pratiques de gestion de la trypanosomose animale et les facteurs associés au développement de la chimiorésistance dans la province de Kéné Dougou (Burkina Faso). Thèse de doctorat unique es-sciences économiques, Université de Ouagadougou -UFR/SEG.
- 19- SOLANO P., MICHEL J. F., LEFRANCOIS T. et al., 1999: Polymerase Chain Reaction as diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Vet. Parasitol.*, **86**: 95-103.
- 20- UILENBERG G., 1998: A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomiasis. Rome, Italie, FAO, 158 p.
- 21- VERY P., BOCQUENTIN R. et DUVALLET G., 1990: Sensibilité de la double microcentrifugation pour la recherche des trypanosomes. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **43** : 325-329.
- 22- WHITELAW D. D., GARDINER P. R. et MURRAY M., 1988: Extravascular foci of *Typanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eyes as potential source of relapse infection after chemotherapy. *Parasitol.*, **97**: 51-61.





Méthode de diagnostic rapide de la résistance des trypanosomes à l'isométramidium et au diminazène sur le terrain

E. TALAKI¹, O. DIALL², I. SIDIBE¹, A.M.G. BELEM³ et L.J. PANGUI⁴

¹ Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES)

01 B.P. 454 – Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

² Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), Mali

³ Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

⁴ Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires, BP 5077, Dakar.

✉ Correspondance et tirés à part, e-mail : talakiessodina@yahoo.fr

Résumé

Dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest, la chimiothérapie dans la lutte contre les trypanosomoses animales fait principalement recours à l'isométramidium et au diminazène. Cependant, cette chimiothérapie est confrontée au problème de résistance aux trypanocides, constituant ainsi une contrainte majeure dans la lutte contre ces maladies. Pour la détection de la chimiorésistance, l'une des méthodes utilisées consiste à la réalisation sur le terrain d'enquêtes collectives basées sur le traitement et le suivi des infections chez des animaux naturellement exposés pendant 56 jours. La présente étude conduite au Burkina Faso (Diéri et Bandougou) et au Mali (Faraba, Chobougou et Sanana), a permis d'évaluer la chimiorésistance dans différentes localités de ces deux pays. Des analyses statistiques (χ^2 , Réduction du Risque Relatif, « Ratio d'Eisler ») sur différentes périodes de suivi (28 et 56 jours), ont été effectuées. Ainsi, un protocole de 28 jours a été développé et testé dans 5 sites pour détecter la résistance aux trypanocides. Ce protocole a permis d'évaluer simultanément l'efficacité des traitements aux deux molécules et d'analyser la résistance à l'isométramidium par espèce de trypanosome. Une résistance à la fois à l'isométramidium et au diminazène a été révélée à Diéri, contrairement au site de Bandougou où l'étude a révélé une efficacité des traitements à base des deux molécules. Ces deux sites ont été considérés comme zones à fortes prévalences parasitologiques. Dans les sites à faibles prévalences, la résistance à l'isométramidium a été révélée à Faraba et à Sanana. En ce qui concerne la résistance au diminazène dans ces deux derniers sites, les faibles taux d'infections décelées n'ont pas permis l'interprétation des résultats des analyses statistiques. Pour cette même raison, nous n'avons pas pu évaluer l'efficacité des deux molécules trypanocides dans le site de Chobougou. (*RASPA*, 5 (1-2) : 29-36).

Mots-clés : Diagnostic - Chimiorésistance - Isométramidium - Diminazène - Trypanosomes.

Abstract

Rapid diagnosis method of trypanosomes resistance to isometamidium and diminazene on the field

In the cotton belt of West Africa, isometamidium and diminazene are the main drugs used in chemotherapy to control animal trypanosomoses. However, this chemotherapy is confronted to the problem of chemoresistance which constitutes a major constraint in the fight against these diseases. For the detection of the chemoresistance, one of the methods used consists to realize on the field, collective investigations based on the treatment and the monitoring of infections among animals naturally exposed during 56 days. The present study, carried in Burkina Faso (Diéri and Bandougou) and Mali (Faraba, Chobougou and Sanana), allowed the assessment of the chemoresistance in different localities of these two countries. Statistical analysis (χ^2 , Reduction of the Relative Risk, "Ratio of Eisler") on different periods of survey (28 and 56 days) have been done. So, a protocol of 28 days was developed and tested in 5 sites to detect the resistance to the trypanocides. This protocol permitted to assess simultaneously the efficiency of the treatments for the two molecules and to analyze the resistance to isometamidium by species of trypanosomes. A resistance both to isometamidium and to diminazene was found at Diéri, contrary to Bandougou site where the survey revealed an efficiency of treatments with the two molecules. These two sites were considered as higher parasitological prevalences' zones. In the sites of low prevalences, resistance to isometamidium was revealed at Faraba and Sanana. Concerning the resistance to diminazene in these last two sites, the low rates of infections recorded did not allow the interpretation of the statistical analysis results. For the same reason, the efficiency of the two molecules in Chobougou site was not assessed.

Key-Words: Diagnosis - Chemoresistance - Isometamidium - Diminazene - Trypanosomes.

Introduction

Dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest, comme dans tous les autres pays de l'Afrique subsaharienne, la chimiothérapie reste le moyen le plus utilisé dans la lutte contre les infections trypanosomiennes. Cette chimiothérapie fait recours à deux principales molécules à savoir, le chlorure d'isométramidium employé essentiellement dans les traitements préventifs et l'acéturate de diminazène utilisée dans les traitements curatifs. Par ailleurs, des études antérieures ont révélé l'existence et même l'extension des phénomènes de chimiorésistance dans certaines régions [1], [2], [6], constituant ainsi un obstacle majeur à la chimiothérapie. Cependant, l'accès à des moyens de diagnostic rapide de la chimiorésistance est essentiel dans toute stratégie de lutte

contre l'extension du phénomène dans les zones affectées et sa dissémination vers des zones indemnes. Il devient alors important que les services nationaux de recherche et de développement concernés puissent être en mesure d'assurer la détection et la surveillance continue du phénomène sur le terrain.

Dans la pratique, la suspicion de résistance est toujours ou souvent éveillée par l'inefficacité apparente d'un traitement trypanocide [4]. Toutefois, sa confirmation fait appel à des méthodes telles que :

- la culture *in vitro* ou *in vivo* des souches de trypanosomes isolées sur le terrain en présence de concentrations croissantes

de trypanocide ;

- le dosage du trypanocide dans le sang pour pouvoir affirmer que le traitement est inopérant, malgré une concentration suffisante du médicament ;
- l'application du test PCR/RFLP (Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphism) pour détecter des marqueurs génétiques de résistance sur des isolats de trypanosomes en utilisant des amorces spécifiques [3] ;
- enfin, la réalisation sur le terrain d'enquêtes collectives basées sur le traitement et le suivi des infections chez des animaux naturellement exposés.

Cette dernière approche a été utilisée par ROWLANDS [10] pour évaluer la résistance au diminazène et par EISLER *et al.* [5] pour évaluer la résistance à l'isométagidium. La méthode de EISLER *et al.* [5] a été appliquée avec succès par McDERMOTT *et al.* [7] au Burkina Faso et par TEWELDE *et al.* [11] en Ethiopie. Cette méthode est basée sur la comparaison des taux d'incidence des infections dans deux groupes de bovins naturellement exposés dont l'un est traité à l'isométagidium et l'autre non traité servant de témoin. Le suivi des infections dure 8 à 12 semaines. Cependant, les protocoles basés sur un suivi prolongé des animaux représentent une contrainte majeure à la participation des producteurs et augmentent le nombre d'abandons au cours des expériences. S'appuyant sur ces travaux antérieurs, la présente étude se propose de développer une méthode rapide pour un diagnostic simultané de la résistance à l'isométagidium et au diminazène sur le terrain. Ceci en raccourcissant le test de EISLER *et al.* [5] et en le complétant par une évaluation des échecs de traitement au diminazène.

Matériel et Méthodes

L'étude a été réalisée dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest regroupant la province du KénéDougou au Burkina Faso, les cercles de Sikasso, de Bougouni et de Yanfolila au Mali. Elle a été menée en deux phases. La première phase était constituée d'enquêtes transversales avec pour objectifs de recueillir des informations sur les prévalences des trypanosomoses animales et d'obtenir en même temps des informations sur les espèces et les densités de glossines dans la zone. Pour la province du KénéDougou, ces données étaient déjà disponibles au CIRDES (Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide) et ont été exploitées pour la deuxième phase de l'étude. Cette deuxième phase était constituée d'enquêtes longitudinales destinées à évaluer les niveaux de chimiorésistance dans des sites à différents niveaux de prévalence. Ces sites ont été choisis à la suite de la première phase.

1. ENQUÊTES TRANSVERSALES

Elles ont été réalisées dans 34 sites correspondant aux villages, dans les cercles de Sikasso (partie ouest), de Bougouni et de Yanfolila au Mali. Ces sites ont été tirés par échantillonnage systématique sur une liste de villages retenus après recensement. Dans chaque site un échantillon (≥ 60) de bovins âgés de plus d'un an a été choisi au hasard tout en s'assurant de la représentativité du cheptel bovin villageois. Sur chaque animal, du sang a été prélevé à la veine jugulaire dans un tube vacutainer à EDTA (Acide éthylène-diamine-tétra-acétique) comme anticoagulant, et la recherche de trypanosomes a été effectuée par la méthode du « Buffy coat » [8]. Pour les données entomologiques, 10 pièges de capture de type CHALLIER - LAVEISSIERE ont été placés par localité et par type d'habitat (galerie et savane) pour une durée de 8 heures.

2. ENQUÊTES LONGITUDINALES

Elles ont été menées entre Septembre 2004 et Janvier 2005, dans 5 sites à différents niveaux de prévalences (2 sites au Burkina Faso et 3

sites au Mali) identifiés à la suite des enquêtes transversales. Dans chacun de ces sites, environ 100 bovins ont été choisis et identifiés par des boucles auriculaires, puis répartis au hasard en deux groupes. Le premier groupe a été traité à l'isométagidium et le second groupe a servi de témoin. En prenant le jour de traitement à l'isométagidium comme point de départ, des séances d'observation au nombre de 5 ont été réalisées aux dates J0, J14, J28, J42 et J56 dans les deux groupes. A J0, tous les animaux ont été testés pour détecter la présence de trypanosomes et une lecture des hématocrites a été effectuée ; le même jour, les bovins du groupe traité ont reçu une injection intramusculaire d'isométagidium à la dose de 1mg/kg de poids vif, tandis que les positifs parasitologiques du groupe témoin recevaient une injection intramusculaire de diminazène à la dose de 3,5mg/kg de poids vif. Toutes les deux semaines, des examens parasitologiques de contrôle avec lecture des hématocrites ont été effectués sur les deux groupes et les positifs des deux groupes ont été traités au diminazène. Ce suivi a duré 8 semaines.

3. ANALYSE DES DONNÉES

Les données des enquêtes transversales ont été utilisées pour le calcul des prévalences parasitologiques. Cela a permis d'identifier les sites (à différents niveaux de prévalence) qui ont été soumis à l'évaluation de la chimiorésistance. Les densités de tsé-tsé ont été également déterminées pour actualiser les connaissances et alimenter une base de données sur les trypanosomoses animales et la chimiorésistance de la zone.

3.1. Evaluation de la résistance à l'isométagidium

Pour l'évaluation de la résistance à l'isométagidium, une comparaison des taux d'incidence des infections a été effectuée dans les deux groupes (traité et témoin). EISLER *et al.* [5] ont comparé les risques d'infection dans les deux groupes en divisant le risque dans le groupe témoin par le risque dans le groupe traité. Ils ont suggéré que la résistance à l'isométagidium soit suspectée lorsque ce rapport est inférieur à 2 ; ce qui équivaut à une réduction du risque d'infection dans le groupe traité de moins de 50% par rapport au groupe témoin. Dans le cas présent, la démarche choisie a consisté à comparer dans chaque site, les proportions de nouvelles infections par des tests statistiques (test de χ^2 , test de réduction du risque relatif : RRR et test basé sur le « ratio de EISLER ») entre les deux groupes de bovins (traité et témoin), sur 28 jours et sur 56 jours post-traitement. Pour ce faire, les données ont été analysées dans les conditions suivantes :

- un comptage de nouvelles infections à partir de J14 ;
- une unique prise en compte de tout animal contrôlé positif durant la période du suivi correspondant ;
- une non prise en compte de tout animal négatif aux précédents contrôles et s'absentant au dernier contrôle du suivi correspondant. Il est alors considéré comme un animal perdu de vue et par conséquent est soustrait de l'effectif suivi ;
- une prise en compte de tout animal présent au dernier contrôle du suivi correspondant même s'il a été irrégulier aux contrôles antérieurs.

L'effet curatif de l'isométagidium (à la dose de 1mg/kg) a été évalué par la mise en évidence, au quatorzième jour post-traitement dans le groupe traité, des échecs de traitement sur des animaux déjà positifs à J0. Un taux d'échec sera fixé, comme étant la limite à partir de laquelle on peut conclure à une résistance.

3.2. Evaluation de la résistance au diminazène

En ce qui concerne le diminazène, son efficacité a été évaluée en fonction des taux de rechutes observés dans les 14 premiers jours après les traitements curatifs (3,5mg/kg) dans le seul groupe témoin, durant la période de suivi. Dans ce cas également, un taux d'échec sera fixé, comme étant la limite à partir de laquelle on peut conclure à une résistance au diminazène.

Résultats

1. ENQUÊTES TRANSVERSALES

Les résultats des enquêtes transversales sont consignés dans le tableau I. Les prévalences parasitologiques enregistrées par localité varient entre 0 et 12,86% sur l'ensemble des sites ayant fait l'objet des enquêtes transversales. La prévalence nulle a été enregistrée dans 5 sites, alors que les plus fortes valeurs des prévalences ont été obtenues dans les villages de Bazana (12,86%) et de Faraba (11,67%). Ces prévalences parasitologiques sont inférieures à celles obtenues par

TALAKI *et al.* [12] lors des enquêtes antérieures dans la zone de Sikasso-Est, où des valeurs de ces prévalences pouvaient atteindre 22% au niveau de certaines localités bien que ces derniers auteurs ne puissent pas conclure à une différence significative de la situation entre Sikasso-Est et Sikasso-Ouest. Par ailleurs, des données enregistrées dans la province du Kéné Dougou par le CIRDES ont révélé de très fortes prévalences parasitologiques dans cette partie du Burkina Faso. C'est l'exemple de Diéri et de Bandougou où des prévalences parasitologiques respectives de 38,5% et de 54,5% ont été rapportées.

Du point de vue entomologique, les valeurs des densités apparentes par piège obtenues par localité pour une durée de 8 heures varient de 0 à 13,8. Ces données étaient destinées à

Tableau I : Prévalences et densités apparentes par piège (DAP)

Zones	Villages	Taille de l'échantillon bovin	Prévalences (%)	DAP
Sikasso (Ouest)	Dougoukolobougou	66	4,55	-
	Mompiéla	70	5,71	0
	Tiola	80	0,00	2,5
	Bazana	70	12,86	12,3
	Karangasso	71	5,63	0,1
	Wékorobougou	78	1,28	0
Bougouni	Oualabougouda	78	5,13	0
	Konoko	78	0,00	0
	Ména	85	5,88	8
	Dissan	76	1,32	0
	Zantiéla	79	6,33	0,2
	Bougoula Tiémala	81	0,00	0
	Kérikoumala	77	0,00	0,2
	Sienré	76	2,63	1,7
	Tiékoumala	69	0,00	0
	Bombala	66	1,52	0,4
	Bagani	58	5,17	4,7
	Bérian	68	2,94	0
	Tonfa	77	1,30	4,6
	Mamissa	63	1,59	5,9
	Faraba	60	11,67	0,5
	Bohi	66	0,00	0
	Konza	63	0,00	0
	Chobougou	71	5,63	0,1
	Niamala	71	2,82	0,5
	Zambala	70	2,86	1,8
Diarrala	67	5,97	9,6	
Babéléna	64	1,56	0	
Yanfolila	Guinso	60	1,67	13,8
	Bounouko	61	1,64	1,6
	Sékou	88	1,14	0,8
	Zamana	76	1,32	2,1
	Tabaco	74	5,41	0
	Sanana	79	5,06	0

2. ENQUÊTES LONGITUDINALES

Les résultats obtenus à l'issue des précédentes enquêtes transversales nous ont permis d'identifier les 5 sites (à différents niveaux de prévalences parasitologiques) qui ont fait l'objet des enquêtes longitudinales. Il s'agit de Diéri (38,5%), Bandougou (54,5%), Faraba (11,67%), Chobougou (5,63%) et Sanana (5,06%). Une prévalence parasitologique supérieure ou égale à 10% a été le critère de classification des sites en haute ou en basse prévalence. Ainsi, les sites de Diéri et de Bandougou au Burkina Faso sont considérés comme des sites à très haute ou très forte prévalence, le site de Faraba au Mali comme un site à haute ou forte prévalence, et les sites de Chobougou et de Sanana toujours au Mali comme à basse ou faible prévalence.

2.1. Evaluation de la résistance à l'isoméamidium

2.1.1. Effet préventif

Dans cette évaluation de la résistance à l'isoméamidium, les données obtenues sont consignées dans le tableau II. Ces données ont été traitées sur des durées de 28 et de 56 jours. Sur une durée de 28 jours, la proportion de nouvelles infections (nouveaux cas) varie de 4 à 25,53% pour les groupes traités et de 0 à 46,34% pour les groupes témoins. La comparaison de ces proportions d'animaux infectés, par le test de χ^2 , entre le groupe traité et le groupe témoin au niveau de chaque site nous a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau III. Pour l'interprétation des résultats, au seuil 5%, une valeur de χ^2 inférieure à 3, 841 (valeur de χ^2 lue au seuil 5%) signifie qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes. En d'autres termes, cela signifie que le traitement n'a pas été efficace et par conséquent il existerait une chimiorésistance au produit testé. Ainsi, cette comparaison a révélé sur une durée de 28 jours la présence de chimiorésistance dans les sites de Diéri, de Faraba et de Sanana avec respectivement des valeurs de χ^2 égales à 0,467 ; 0,127 et 1,585. Par contre, dans le site de Bandougou, le traitement à l'isoméamidium a été efficace puisque la valeur du χ^2 résultant de la comparaison entre le groupe traité et le groupe témoin, est égale à 14,921. Cependant, le risque nul enregistré dans le groupe témoin à Chobougou n'a pas permis la comparaison entre les deux groupes.

L'analyse sur une période de 8 semaines (56 jours) a permis d'obtenir des proportions plus élevées d'animaux infectés dans les deux groupes. Pour l'ensemble des sites, elles varient de 10 à 43,90% pour les groupes traités et de 4,08 à 63,41% pour les groupes témoins. La comparaison entre le lot traité et le lot témoin dans chaque site a révélé la présence de chimiorésistance dans les sites de Diéri, de Faraba et de Sanana et une efficacité du traitement dans le site de Bandougou (tableau IV). Toutefois, le faible risque enregistré dans le groupe témoin à Chobougou n'a pas permis la comparaison entre les deux groupes dans ce site. Les effectifs calculés des infectés étaient inférieurs à 5.

L'analyse des données sur un suivi de 28 jours dans les différents sites étudiés a abouti aux mêmes conclusions que celles obtenues par l'analyse des données sur une durée de 56 jours. En comparant ces deux méthodes par la méthode « de ratio » de EISLER *et al.* [5], nous aboutissons presque aux mêmes résultats (tableau V). En effet, ces derniers auteurs ont suggéré que la résistance à l'isoméamidium soit suspectée lorsque le rapport du risque d'infection dans le groupe témoin sur le risque dans le groupe traité est inférieur à 2, ce qui équivaudrait à une réduction du risque d'infection dans le groupe traité de moins de 50% par rapport au groupe témoin. Le calcul de la Réduction Relative du Risque (RRR) et de son intervalle de confiance à 95% nous a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau VI. Dans cette méthode d'analyse, à partir de la borne inférieure de l'intervalle de confiance, on détermine le taux maximal de protection conféré par l'isoméamidium et on en déduit le taux minimal d'échec correspondant. Le problème qui se pose dans cette analyse

est l'absence d'un seuil consensuel du taux d'échec à partir duquel on peut conclure la présence de la chimiorésistance. Par ailleurs, dans le cas du paludisme, un taux d'échec de 25% est considéré par l'OMS [9] comme la limite tolérable pour la chloroquine dans le traitement de la maladie. Dans cette étude, si nous considérons 25% comme étant la valeur seuil du taux d'échec à partir de laquelle nous pouvons conclure à la présence de la résistance à l'isométagidium dans un site, nous

aboutissons à peu près aux mêmes conclusions que dans les méthodes d'analyses précédentes, à l'exception du site de Sanana où la méthode de RRR révélerait dans cette hypothèse, une efficacité du produit (échec = 16,44%).

Par contre, au regard des résultats obtenus avec les autres méthodes d'analyse et en adoptant 15% comme la valeur seuil, on aboutit à une bonne corrélation entre toutes les méthodes d'analyse.

Tableau II : Données par site sur 28 jours et sur 56 jours de suivi

Site (village)	Suivi sur 28 jours		Suivi sur 56 jours		
	Groupe traité	Groupe témoin	Groupe traité	Groupe témoin	
Diéri (Burkina Faso)	Effectif initial à J0	50	50	50	50
	Perdu de vue	3	3	9	3
	Effectif suivi	47	47	41	47
	Positif	12	15	18	24
	Négatif	35	32	23	23
Bandougou (Burkina Faso)	Effectif initial à J0	44	41	44	41
	Perdu de vue	0	0	0	0
	Effectif suivi	44	41	44	41
	Positif	4	19	8	26
	Négatif	40	22	36	15
Faraba (Mali)	Effectif initial à J0	52	49	52	49
	Perdu de vue	3	1	8	6
	Effectif suivi	49	48	44	43
	Positif	5	6	9	12
	Négatif	44	42	35	31
Chobougou (Mali)	Effectif initial à J0	51	49	51	49
	Perdu de vue	1	2	1	0
	Effectif suivi	50	47	50	49
	Positif	2	0	5	2
	Négatif	48	47	45	47
Sanana (Mali)	Effectif initial à J0	50	50	50	50
	Perdu de vue	2	1	4	4
	Effectif suivi	48	49	46	46
	Positif	4	8	6	9
	Négatif	44	41	40	37

Tableau III : Résultats de l'analyse des données sur 28 jours par le test de khi²

Site (village)	Suivi sur 28 jours				
	Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%	
Diéri	Effectif suivi	47	47	0,467	CR
	Positif	12	15		
	Pourcentage infecté (%)	25,53	31,91		
Bandougou	Effectif suivi	44	41	14,9	Ef
	Positif	4	19		
	Pourcentage infecté (%)	9,09	46,34		
Faraba	Effectif suivi	49	48	0,127	CR
	Positif	5	6		
	Pourcentage infecté (%)	10,20	12,50		
Chobougou	Effectif suivi	50	47	-	-
	Positif	2	0		
	Pourcentage infecté (%)	4,00	0,00		
Sanana	Effectif suivi	48	49	1,585	CR
	Positif	4	8		
	Pourcentage infecté (%)	8,33	16,33		

CR : Chimiorésistance

Ef : Efficacité du traitement

Tableau IV : Résultats de l'analyse des données sur 56 jours par le test de khi²

Site (village)	Suivi sur 56 jours				
		Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%
Diéri	Effectif suivi	41	47	0,45	CR
	Positif	18	24		
	Pourcentage infecté (%)	43,90	51,06		
Bandougou	Effectif suivi	44	41	18,093	Ef
	Positif	8	26		
	Pourcentage infecté (%)	18,18	63,41		
Faraba	Effectif suivi	44	43	0,659	CR
	Positif	9	12		
	Pourcentage infecté (%)	20,45	27,91		
Chobougou	Effectif suivi	50	49	-	-
	Positif	5	2		
	Pourcentage infecté (%)	10,00	4,08		
Sanana	Effectif suivi	46	46	0,742	CR
	Positif	6	9		
	Pourcentage infecté (%)	13,04	19,57		

CR : Chimiorésistance Ef : Efficacité du traitement

Tableau V : Comparaison des résultats entre méthodes d'analyse

Site (village)	Suivi sur 56 jours		Suivi sur 28 jours		« Ratio de Eisler »	
	Khi ² Valeur	Conclusion au seuil 5%	Khi ² Valeur	Conclusion au seuil 5%	Valeur	Conclusion
Diéri	0,45	CR	0,467	CR	1,25	CR
Bandougou	18,093	Ef	14,921	Ef	5,10	Ef
Faraba	0,659	CR	0,127	CR	1,23	CR
Chobougou	-	-	-	-	-	-
Sanana	0,742	CR	1,585	CR	A1,96	CR

CR : Chimiorésistance Ef : Efficacité du traitement

Tableau VI : Réduction Relative du Risque (RRR)

Site (village)	Suivi sur 28 jours							
		Groupe traité	Groupe témoin	RRR	Intervalle de confiance	Protection maximale (%)	Echec(%)	Conclusion
Diéri	Suivi	47	47	0,8	0,420 - 1,520	58	42	CR
	Positif	12	15					
	Positif (%)	25,53	31,91					
Bandougou	Suivi	44	41	0,196	0,072 - 0,528	92,8	7,2	Ef
	Positif	4	19					
	Positif (%)	9,09	46,34					
Faraba	Suivi	49	48	0,816	0,266 - 2,497	73,4	26,6	CR
	Positif	5	6					
	Positif (%)	10,20	12,50					
Chobougou	Suivi	50	47	-	-	-	-	-
	Positif	2	0					
	Positif (%)	4,00	0,00					
Sanana	Suivi	48	49	0,51	0,164 - 1,583	83,6	16,4	?
	Positif	4	8					
	Positif (%)	8,33	16,33					

CR : Chimiorésistance Ef : Efficacité du traitement

2.1.2. Effet curatif

L'effet curatif de l'isoméamidium à la dose de 1mg/kg est évalué par le taux de rechutes au quatorzième jour post-traitement (J14) dans le groupe traité. Les résultats de ces échecs post-traitement figurent dans le tableau VII.

Les taux de rechute sont de 0% pour les sites de Bandougou, Chobougou et de Sanana ; de 16,67% pour le site de Faraba et de 40% pour le site de Diéri.

Contrairement aux autres sites, le nombre de positifs traités à l'isoméamidium était relativement plus élevé à Diéri et Bandougou qui représentent des sites à très haute prévalence. En prenant en compte le nombre de traitement et en fixant 15% voire 25% comme valeur seuil du taux d'échec à partir de laquelle nous pouvons conclure à l'inefficacité du produit, nous pouvons dire que l'isoméamidium n'a pas eu un effet curatif efficace dans le site de Diéri où un taux d'échec de 40% a été enregistré.

Par contre, l'effet curatif du même produit à la même dose est évalué avec succès dans le site de Bandougou où un taux d'échec de traitement nul a été obtenu sur 11 cas traités. Cependant, les taux d'échec de traitement obtenus dans les zones où la prévalence n'est pas très forte sont à prendre avec une grande prudence, étant donné que les effectifs traités à J0 sont faibles (inférieurs à 10).

Tableau VII : Taux de rechute après traitements à l'isoméamidium

Sites	Positifs traités à J0	Cas de rechute à J14	Taux de rechute (%)
Diéri	20	8	40
Bandougou	11	0	0
Faraba	6	1	16,67*
Chobougou	3	0	0*
Sanana	3	0	0*

* Prudence dans l'interprétation de la valeur à cause du nombre de traitement faible

2.2. Evaluation de la résistance au diminazène

Pour l'évaluation de la résistance au diminazène, le total des infections traitées dans le groupe témoin à J0 et J14 a permis de calculer les taux de rechute au quatorzième jour post-traitement dans chaque site. Les résultats sont enregistrés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Taux de rechute de traitement au diminazène par site

Sites	Total des infections traitées	Rechutes 14 jours post-traitement	Taux de rechute (%)
Diéri	15	4	26,67
Bandougou	19	1	5,26
Faraba	6	0	0,00*
Chobougou	0	0	-
Sanana	3	1	33,33*

* Prudence dans l'interprétation de la valeur à cause du nombre de traitement faible

Tableau IX : Echecs de traitement dans l'espèce *T. congolense*

Site (village)	Effectif	Suivi sur 28 jours				Suivi sur 56 jours			
		Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%	Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%
Diéri	Suivi	47	47	0,237	CR	41	47	0,076	CR
	Positif	12	10			16	17		
Bandougou	Suivi	44	41	6,784	Ef	44	41	7,764	Ef
	Positif	4	13			8	19		
Faraba	Suivi	49	48	-	-	44	43	-	-
	Positif	1	2			1	3		
Chobougou	Suivi	50	47	-	-	50	49	-	-
	Positif	1	0			1	0		
Sanana	Suivi	48	49	-	-	46	46	-	-
	Positif	4	5			0	6		

CR : Chimiorésistance

Ef : Efficacité du traitement

Discussion

L'utilisation des résultats des enquêtes transversales pour identifier les sites à forte prévalence à soumettre à l'évaluation de la chimiorésistance est un point très important. Bien que la chimiorésistance puisse exister dans les zones à haute et à faible prévalences, il serait économiquement plus pertinent de s'intéresser à la chimiorésistance là où les trypanosomoses constituent un problème majeur, et aussi, il serait techniquement

2.3. Résistance à l'isoméamidium par espèce de trypanosome

L'analyse des données par espèce de trypanosome a permis d'obtenir des échecs de traitement consignés dans les tableaux IX et X pour l'isoméamidium. Sur l'ensemble des résultats, les infections enregistrées par espèces de trypanosome ne sont pas suffisantes pour aboutir à une conclusion au niveau de chaque site. Néanmoins, l'analyse de ces données par le test de khi², a révélé une efficacité du traitement à l'isoméamidium dans les infections à *Trypanosoma congolense* dans le site de Bandougou.

Le nombre d'infections traitées au diminazène est relativement plus élevé dans les sites à forte prévalence parasitologique représentés par Diéri et Bandougou. En prenant encore 15% voire 25% comme valeur seuil, nous pouvons conclure à une résistance au diminazène à Diéri avec un taux d'échec de 26,67% contrairement à Bandougou où nous avons noté une efficacité du trypanocide en question avec un cas de rechute enregistré sur 19 infections traitées. Pour les autres sites à faible prévalence, les valeurs de taux de rechute calculées méritent d'être traitées avec prudence en raison du faible nombre des infections traitées.

En ce qui concerne l'efficacité de ce produit sur *Trypanosoma vivax* dans ce même site, aucune conclusion n'a pu être tirée, même si le nombre d'infections décelées dans le groupe traité est relativement faible par rapport au groupe témoin (tableau X). Cependant, dans le site de Diéri, la chimiorésistance a été révélée dans les deux espèces de trypanosome. Au niveau de Faraba et de Sanana, elle n'a pu être révélée que dans l'espèce *Trypanosoma vivax*.

impossible de réaliser des enquêtes longitudinales d'évaluation sur un grand nombre de sites à la fois.

Le suivi parasitologique des animaux par la méthode de EISLER *et al.* [5], constitue l'approche de base pour l'évaluation de la résistance à l'isoméamidium sur le terrain. Toutefois, cette méthode exige un suivi minimal de 56 jours, soit 8 semaines, avec des séances d'observations parasitologiques d'intervalles réguliers de 14 jours alourdissant le suivi à la fois pour les équipes de recherche et pour les paysans qui doivent consacrer beaucoup de temps aux séances de contrôle.

Tableau X : Echecs de traitement dans l'espèce *T. vivax*

Site (village)	Effectif	Suivi sur 28 jours				Suivi sur 56 jours			
		Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%	Groupe traité	Groupe témoin	Khi ²	Conclusion au seuil 5%
Diéri	Suivi	47	47	-	-	41	47	*0,609	CR
	Positif	0	5			3	7		
Bandougou	Suivi	44	41	-	-	44	41	-	-
	Positif	1	6			1	7		
Faraba	Suivi	49	48	-	-	44	43	0,104	CR
	Positif	4	4			8	9		
Chobougou	Suivi	50	47	-	-	50	49	-	-
	Positif	1	0			4	2		
Sanana	Suivi	48	49	-	-	46	46	*0,492	CR
	Positif	0	3			6	3		

* Correction de YATES appliquée au Khi²

CR: Chimiorésistance

Dans la présente étude, nous avons voulu raccourcir le temps de suivi en le ramenant à 28 jours exigeant seulement deux examens parasitologiques de contrôle aux 14^{ème} et 28^{ème} jours après traitement.

Cette méthode simplifiée a pu être comparée à la méthode de 56 jours dans les mêmes sites et sur les mêmes sujets, de même qu'à la méthode de ratio des taux d'incidence proposée par EISLER *et al.* [5]. Les résultats ont montré une très bonne corrélation entre les trois méthodes. Par contre, dans le site de Chobougou qui est l'un des sites à faible prévalence, le risque d'infection s'est révélé particulièrement très faible ; ainsi, le suivi n'a pas permis d'obtenir un nombre d'infections suffisant pour l'analyse statistique. Il serait important, pour pallier à cet inconvénient, de conduire le suivi pendant la période de forte transmission. Les taux d'échecs révélés par l'épreuve de 28 jours doivent être considérés comme des minima, car des rechutes tardives auraient pu apparaître, si le suivi avait été plus long.

En ce qui concerne l'évaluation de l'effet curatif de l'isométabidum et du diminazène, les infections observées au 14^{ème} jour post-traitement, ont été considérées comme des rechutes et celles observées plus tard, comme des réinfections. A ce niveau également, les taux d'échecs rapportés sont certainement sous-estimés en raison de l'impossibilité de prendre en compte les rechutes tardives.

Pour l'ensemble de ces différentes méthodes utilisées pour l'évaluation de l'efficacité d'un trypanocide, la sensibilité des tests pourrait être améliorée en jouant sur la taille des échantillons ou sur la technique de diagnostic parasitologique.

Conclusion

Les résultats de cette étude ont montré qu'une approche combinant une enquête transversale pour évaluer les prévalences avec une épreuve de suivi parasitologique de sujets traités aux trypanocides sur 28 jours permettait de générer des données de base sur les trypanosomoses et de donner une indication sur les niveaux de résistance à l'isométabidum et au diminazène, à l'échelle d'une zone. Cette méthode de suivi sur 28 jours a donné des résultats comparables à celles de 56 jours.

En plus, cette méthode de 28 jours peut aussi être déconnectée de l'enquête d'évaluation des prévalences et servir à vérifier l'existence de la chimiorésistance dans des sites particulièrement suspects et issus d'une zone où la situation générale des trypanosomoses est déjà connue. Le caractère relativement simple et économique de l'épreuve et son gain de temps, pourraient en faire un outil précieux pour la détection et la surveillance des foyers de résistance aux trypanocides et pour la recommandation de stratégies de lutte appropriées. Un taux d'échec de 15% pourrait être considéré comme valeur limite à partir de laquelle on peut conclure à une résistance aux trypanocides. Toutefois, pour les sites à faible prévalence, la sensibilité de cette méthode pourrait être améliorée en ciblant la période de forte transmission, en augmentant si possible la taille de l'échantillon et/ou en améliorant la sensibilité de la technique du diagnostic parasitaire.

Bibliographie

- 1- AUTHIE E., 1984. Mise en évidence d'une résistance aux trypanocides parmi les souches de *Trypanosoma congolense* récemment isolées au Burkina Faso. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 37 (no. spécial): 219-235.
- 2- CLAUSEN P-H.; SIDIBE I.; KABORE I et BAUER B., 1992. Development of multiple drug resistance of *Trypanosoma congolense* in Zebu cattle under high tsetse fly challenge in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso. *Acta Tropica* 51:229-236.
- 3- DELESPAUX V. ; GEYSEN D. et GEERTS S., 2005. Diagnostic moléculaire de la résistance à l'isométabidum chez *Trypanosoma congolense*. In: 28^{ème} réunion du conseil scientifique international pour la recherche et la lutte contre les trypanosomoses, Addis Abeba, Ethiopie, 26-30 Septembre.
- 4- DIALL O. ; CLAUSEN P-H. ; DIHALLO B. ; MUENSTERMANN S. ; BOCOUM Z.; DJITEYE A. ; DIARRA B. ; BARRY A.M.; BENGALY Z. ; AFFOGNON H. ; RANDOLPH T.F. et McDERMOTT J.J., 2003. Evaluation de la chimiorésistance des trypanosomes dans la zone sub-humide cotonnière de l'Afrique de l'Ouest. (427-432) In: Proceedings of the 27th meeting of ISCTRC, Pretoria, October 2003, Publication, 122.
- 5- EISLER M.C.; McDERMOTT J.; MDACHI R.; MURILLA G.; SINYANGWE L.; MACHILA N.; MBODY WEIGHTAMBO.; COLEMAN P.G.; CLAUSEN P-H.; BAUER B.; SIDIBE I.; GEERTS S.; HOLMES P.H. et PEREGRINE A.S., 2000. A rapid method for assessment of trypanocidal resistance in the field. In : 9th Symposium of International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE 9), Breckenridge, Colorado, 6-11 august.
- 6- McDERMOTT J.J.; SIDIBE I.; BAUER B.; DIARRA B.; CLAUSEN P-H.; WOITAG T.; OUEDRAOGO D.; KAMUJANGA M.; PEREGRINE A.S.; EISLER M.C. et MEHLITZ D., 2000. Field studies on the development and impact of drug resistant animal trypanosomes in market-oriented production systems in the southern Guinean Zone of West Africa. *Newsletter on Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors*, 2: 18-21.

- 7- McDERMOTT J.; WOITAG T.; SIDIBE I.; BAUER B.; DIARRA B.; OUEDRAOGO D.; KAMUANGA M.; PEREGRINE A.; EISLER M.; ZESSIN K-H.; MEHLITZ D. et CLAUSEN P-H., 2003. Field studies of drug-resistant cattle trypanosomes in Kéné Dougou Province, Burkina Faso. *Acta Tropica*, 86: 93-103.
- 8- MURRAY M.; MURRAY P.K. et Mc INTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71 : 325-326.
- 9- OMS, 2004. Evaluation et Surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué.- Genève : OMS.- 68 p.
- 10- ROWLANDS G.J., 2000. Detecting drug resistance of trypanosomal infections to diminazène aceturate- a possible field test? Newsletter of Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors, 2 April.
- 11- TEWELDE N.; ABEBE G.; EISLER M.; McDERMOTT J.; GREINER M.; AFEWORK Y.; KYULE M.; MÜNSTERMANN S.; ZESSIN K-H. et CLAUSEN P-H., 2004. Application of field methods to assess isometamidium resistance of trypanosomes in cattle in western Ethiopia. *Acta Tropica*, 90: 163-170.
- 12- TALAKI E. ; SIDIBE I. ; DIALL O. ; GRACE D. ; BARRY A.M. ; DJITEYE A. ; BOCOUM Z. ; CLAUSEN P-H. ; RANDOLPH T. ; AFFOGNON H. ; HENDRICKX G. ; PANGUI L.J. et BELEM A.M.G., 2006. Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée). *RASPA*, 4 (1-2): 45-50.



Répartition spatiale des trypanosomoses animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée)



TALAKI, E.¹, SIDIBÉ, I.¹, DIALLO, O.², GRACE, D.³

¹ Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) 01 B.P. 454 – Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

² Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), Mali

³ Université Libre de Berlin, Allemagne



1. INTRODUCTION

En Afrique Subsaharienne, la chimiothérapie reste le moyen le plus utilisé dans la lutte contre la Trypanosomose Animale Africaine (TAA). Cependant, cette chimiothérapie s'appuie sur des molécules anciennes (GEERTS et HOLMES, 1998) dont l'utilisation répétée et parfois anormale, a conduit dans certaines régions à l'émergence de la chimiorésistance (EISLER et al.). Cette chimiorésistance a été identifiée dans la province du Kénéédougou au Burkina Faso (CLAUSEN et al., 1992; McDERMOTT et al., 2000; DIARRA, 2001; OUEDRAOGO, 2002). L'objectif du présent travail était de connaître la situation épidémiologique de ce phénomène dans la ceinture cotonnière allant du Mali jusqu'en Guinée.



Figure 1: Traitement d'un bovin

Au Mali, ces infections sont dues à *Trypanosoma congolense* dans 49% des cas et à *Trypanosoma vivax* dans 51% des cas. Celles de la Guinée se caractérisent par la prédominance de *Trypanosoma brucei* enregistré dans 59% des cas, suivi de *Trypanosoma congolense* rencontré dans 36% des cas et enfin *Trypanosoma vivax* avec 5% de cas (figure 4).

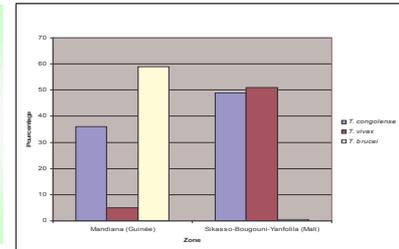


Figure 4: Pourcentage des infections par espèce parasitaire

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Zone d'étude

Cette étude a été menée dans la ceinture cotonnière de l'Afrique de l'Ouest regroupant le cercle de Sikasso (Sikasso-Est et Sikasso-Ouest) et le cercle de Bougouni - Yanfollia au Mali et la préfecture de Mandiana en Guinée. Il s'agit d'une zone subhumide caractérisée par une forte culture cotonnière.

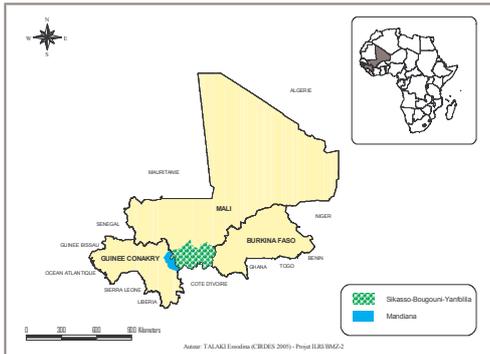


Figure 2: Zone d'intervention

2.2. Méthodes

Enquêtes transversales

Elles ont été conduites de Septembre 2002 à Juillet 2004 dans 89 villages (59 au Mali et 30 en Guinée) et ont porté sur un total de 5 474 bovins. Elles avaient pour objectif d'identifier les foyers potentiels de chimiorésistance et évaluer les facteurs favorisant l'apparition de la chimiorésistance dans ces localités à savoir le risque trypanosomien (prévalence des infections chez les bovins, densité et taux d'infection des mouches tsé-tsé) et les pratiques d'utilisation des produits trypanocides.

Enquêtes longitudinales

Ménées à la suite des enquêtes transversales, elles avaient pour objectif de mettre en évidence des échecs de traitements (chimiorésistance) dans les sites révélés suspects. Une prévalence parasitologique $\geq 10\%$ a été le critère de sélection de ces sites suspects. Néanmoins quelques villages ont été repêchés pour cette étude longitudinale. Il s'agit d'un suivi parasitologique réalisé sur deux lots de 40 à 50 bovins par le Buffy Coat Technique (BCT) toutes les deux semaines pendant 56 jours. Le premier lot ayant reçu un traitement à l'isométiamidium (ISMM) à la dose de 1mg/kg et le second lot ayant servi de lot témoin.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Prévalences parasitologiques et types d'infection

L'ampleur du phénomène décroît de l'Est à l'Ouest de la zone. Sikasso-Est est plus affecté avec une prévalence parasitologique moyenne de 6,3% contre 5% dans la partie Sikasso-Ouest. La situation dans la zone Bougouni-Yanfollia s'apparente à celle retrouvée à Mandiana en Guinée. La prévalence moyenne est de 2,9% dans la zone Bougouni-Yanfollia et de 2,8% à Mandiana (figure 3).

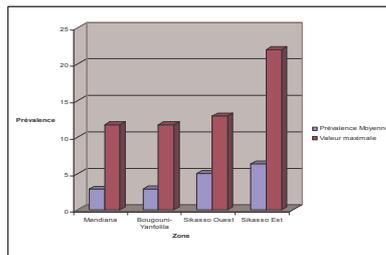


Figure 3: Prévalences de la TA

3.2. Entomologie

Glossina palpalis est retrouvée dans toute la zone et constitue l'unique espèce capturée dans la zone Sikasso Ouest (DAP = 2,48) et l'espèce majoritaire dans la zone Bougouni-Yanfollia (DAP = 1,38) et à Mandiana (DAP = 1,23). *Glossina tachinoides* quant à elle, n'a été capturée que du côté du territoire malien avec une DAP de 2,74 à Sikasso Est et de 0,64 dans la zone Bougouni-Yanfollia. Pour l'espèce de savane (*Glossina morsitans*) une DAP de 0,09 a été obtenue à Mandiana (figure 5).

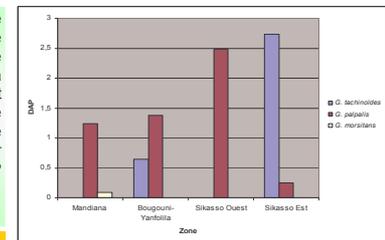


Figure 5: DAP par espèce de glossine

NB: Pas de pose de piège en savane à Bougouni-Yanfollia et à Sikasso Ouest

3.3. Chimiorésistance

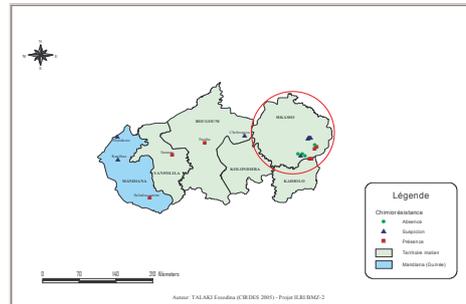


Figure 6: Carte de distribution de la chimiorésistance à l'ISMM

Un total de 19 villages (13 villages à Sikasso Est, 03 villages dans la zone Bougouni-Yanfollia et 03 villages à Mandiana) ont fait l'objet de l'étude de la chimiorésistance. Les résultats ont révélé la présence de la chimiorésistance à l'isométiamidium (ISMM) dans 07 villages (04 villages à Sikasso, 02 villages dans la zone Bougouni-Yanfollia et 01 village à Mandiana) soit environ plus du 1/3 des villages étudiés (figures 6 et 7).

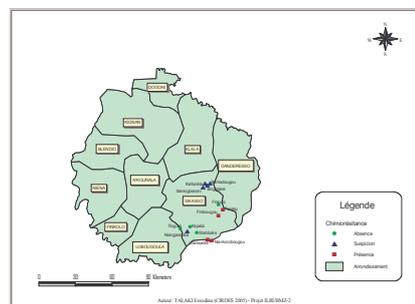


Figure 7: Distribution de la chimiorésistance dans la zone de Sikasso

Ces mêmes résultats ont conclu une suspicion de chimiorésistance dans 08 villages (05 villages à Sikasso, 01 village dans la zone Bougouni-Yanfollia et 02 villages à Mandiana). Il s'agit d'une suspicion, car de nouveaux cas ont été enregistrés dans le lot traité à l'ISMM avant 28 ou 56 jours mais la différence observée entre l'incidence dans le lot traité et dans le lot non traité n'est pas significative (seuil 5%). Une absence de chimiorésistance est révélée dans 04 villages dans la préfecture de Sikasso sur un total de 14 villages étudiés dans cette préfecture (figures 6 et 7).

4. CONCLUSION

La répartition spatiale de la trypanosomose animale dans la ceinture cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée) montre un gradient décroissant de la maladie de l'Est à l'Ouest de la zone. Cependant, la chimiorésistance à l'isométiamidium a été révélée indifféremment dans les zones à haute et à basse prévalences.

CETTE ETUDE A ETE FINANCEE PAR LA COOPERATION ALLEMANDE SOUS LE PROJET ILRI/BMZ-2

Projet Coordonné par le International Livestock Research Institute (ILRI) de Nairobi au Kenya et en partenariat avec: le CIRDES de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso),

l'Université Libre de Berlin et l'Université d'Hannover (Allemagne), le LCV et l'Unité de Lutte Contre la Trypanosomose (ULCT) de Bamako (Mali) et le DNE / IRAG en Guinée

RESUME

Les trypanosomoses animales africaines (TAA) demeurent une des contraintes majeures au développement de l'élevage en Afrique subsaharienne et plus particulièrement dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest où l'élevage bovin fournit des bœufs pour des travaux agricoles.

Des enquêtes transversales (2002-2004) réalisées dans 89 villages (au Mali et en Guinée), ont porté sur 5 474 bovins. Suite à ces enquêtes, plusieurs villages suspects ont fait l'objet d'enquêtes longitudinales pour mettre en évidence des échecs de traitements aux trypanocides (isométabidum et diminazène) sur des bovins.

L'analyse spatiale des résultats a montré que l'ampleur des prévalences parasitologiques dans la zone d'étude, décroît de l'Est à l'Ouest. Sikasso-Est (Mali) est la partie la plus affectée avec une prévalence parasitologique moyenne de 6,3% contre 5% à Sikasso-Ouest (Mali), 2,9% à Bougouni-Yanfolila (Mali) et 2,8% à Mandiana (Guinée). Une nette prédominance des infections à *Trypanosoma brucei* (59%) a été décelée à Mandiana en Guinée. L'espèce *Glossina palpalis gambiensis* est retrouvée dans toute la zone d'étude. *Glossina tachinoides* quant à elle, n'a été capturée que du côté du territoire malien avec une densité apparente par piège (DAP) de 2,74 à Sikasso-Est et de 0,64 dans la zone Bougouni-Yanfolila. Pour l'espèce de savane (*Glossina morsitans submorsitans*), une DAP de 0,09 a été obtenue à Mandiana.

Une étude de la variation saisonnière dans 11 sites du cercle de Sikasso, a montré une hétérogénéité dans l'évolution des prévalences parasitologiques. De fortes prévalences parasitologiques ont été enregistrées en saison pluvieuse dans les sites de Diassadié (34%) et de Wahibéra (28,89%). Ces deux villages ont été les seuls à présenter une variation saisonnière significative (au seuil 5%) des valeurs de prévalences observées. La valeur moyenne de l'hématocrite en cette saison pluvieuse était la plus forte (26,49% ± 0,43) avec une variation significative entre les autres saisons. Une corrélation significative ($\alpha=0,05$) entre la densité apparente de *Glossina palpalis gambiensis* et le taux d'infection des bovins a été observée en saison pluvieuse.

Des études sur la résistance aux trypanocides ont été réalisées. Elles ont révélé la présence et la suspicion de la résistance à l'isométabidum et au diminazène dans plusieurs localités. Des analyses statistiques (Khi^2 , Réduction du Risque Relatif, « Ratio d'Eisler ») sur différentes périodes de suivi (28 et 56 jours), ont été effectuées. Ainsi, un protocole de 28 jours a été développé et testé dans 5 sites pour détecter la résistance aux trypanocides. Ce protocole a permis d'évaluer simultanément l'efficacité des traitements aux deux molécules trypanocides (isométabidum et diminazène) dans les zones à faible et à forte prévalences parasitologiques. Une bonne corrélation a été obtenue, d'une part entre les différentes méthodes d'analyses statistiques et d'autre part entre les résultats des suivis longs sur 56 jours et des suivis sur 28 jours, rendant ainsi ces derniers, aptes à détecter des chimiorésistances sur le terrain. Toutefois, la sensibilité de ces méthodes de détection de terrain reste faible dans les zones à faible prévalence parasitologique.

L'analyse par PCR unique pantrypanosomique à l'aide des amorces ITS (Internal Transcribed Spacer) a été réalisée à partir des prélèvements de buffy coat sur du papier filtre. Cette PCR utilisant des amorces polyspécifiques a indiqué des prévalences parasitologiques 1,2 à 6,2 fois supérieures à celles décelées par l'analyse microscopique du buffy coat sur les mêmes échantillons. Cette technique pourrait être mise à profit dans la détection de la chimiorésistance surtout dans les zones à faible prévalence parasitologique.

Mots clés: Trypanosomes, diagnostic, chimiorésistance, isométabidum, diminazène, zone cotonnière, Afrique de l'Ouest.

ENGLISH SUMMARY: see on inside back cover

SUMMARY

African animal trypanomosis remains one of the major constraints for livestock development in sub-Saharan Africa, especially in the cotton belt of the West Africa where livestock provides oxen for agricultural works.

Cross sectional surveys (2002-2004) were conducted in 89 villages (Mali and Guinea), on 5 474 cattle. These investigations helped to identify several suspected villages which were chosen for longitudinal surveys in order to detect failures of treatments with trypanocidal drugs (isometamidium and diminazene) in cattle.

The spatial analysis of the results showed that parasitological prevalences decrease from the East to the West across the study area. Sikasso-East (Mali) was the most affected area with an average prevalence of 6.3%, against 5% in Sikasso-West (Mali), 2.9% in Bougouni-Yanfolila area (Mali) and 2.8% in Mandiana (Guinea). A clear predominance of *Trypanosoma brucei* infections (59%) was recorded in Mandiana (Guinea). *Glossina palpalis gambiensis* was found all across the study area while, *Glossina tachinoides* was captured only in Mali with an apparent density per trap of 2.74 in Sikasso-East and of 0.64 in Bougouni-Yanfolila area. As for the savannah species, *Glossina morsitans submorsitans*, an apparent density per trap of 0.09 was recorded in Mandiana.

A study on seasonal variations showed some heterogeneity in the evolution of the parasitological prevalences in 11 sites of Sikasso. High prevalences were recorded during the rainy season (August) at Diassadiè (34%) and at Wahibéra (28.89%). Only those two villages presented a significant seasonal variation (threshold 5%) of the observed prevalence values. The mean hematocrit value was higher in the rainy season ($26.49\% \pm 0.43$) with a significant seasonal variation. A significant correlation ($\alpha = 0.05$) between the density of *Glossina palpalis gambiensis* and the rate of infection in cattle was observed during the rainy season.

Studies on trypanocide resistance were also conducted. They revealed the presence or suspicion of the resistance to isometamidium and to diminazene in several localities. Statistical analyses (K_{hi}², Reduction of the Relative Risk, "Ratio of Eisler") for different follow up durations (28 and 56 days) have been done. In this respect, a 28-day protocol was developed and tested in 5 sites to detect trypanocide resistance. This protocol allowed to assess simultaneously the efficiency of the treatments with the two most currently used molecules (isometamidium and diminazene) in both low and high challenge areas. A good correlation was obtained, between the results of different statistical methods, on one hand, and between the results of 56-day and 28-day monitorings on the other hand. For these reasons, the latter could be suggested for detection of chemoresistances on the field. However, the sensitivity of these methods remains low in low challenge areas.

Samples were tested using unique "pantrypanosomique" PCR with ITS (Internal Transcribed Spacer) primers. This PCR using polyspecific primers indicated parasitological prevalences of 1.2 to 6.2 times higher than those recorded by the microscopic analysis of the buffy coat on the same samples. This technique could be used in the detection of the chemoresistance especially in the low challenge areas.

Keywords: Trypanosomes, diagnosis, chemoresistance, isometamidium, diminazene, cotton belt, West Africa.